



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102735679 B

(45) 授权公告日 2015. 07. 15

(21) 申请号 201210212824. 6

(22) 申请日 2012. 06. 26

(73) 专利权人 博奥赛斯(天津)生物科技有限公司

地址 300300 天津市东丽区四纬路 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 21/76(2006. 01)

G01N 33/535(2006. 01)

G01N 33/74(2006. 01)

(56) 对比文件

CN 1880958 A, 2006. 12. 20, 说明书第 2-6 页.

CN 1880958 A, 2006. 12. 20, 说明书第 2-6 页.

CN 1661370 A, 2005. 08. 31, 说明书第 1 页.

CN 102051389 A, 2011. 05. 11, 说明书第 30-32 段.

JP 平 2-57976 A, 1990. 02. 27, 全文.

审查员 崔秀艳

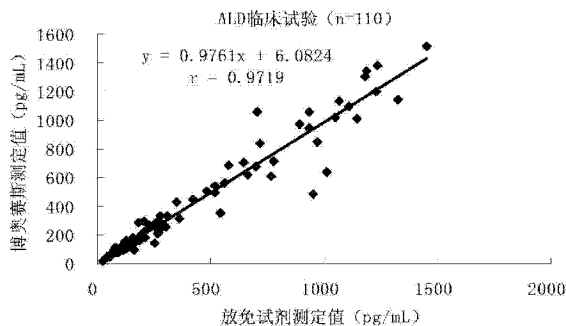
权利要求书1页 说明书6页 附图1页

(54) 发明名称

醛固酮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 ALD 化学发光免疫定量检测试剂盒, 本发明试剂盒包含 ALD 抗体包被板、ALD 酶结合物、ALD 校准品、ALD 质控品、发光液 A 液和 B 液、20 倍浓缩洗液。制备本发明试剂盒包含以下步骤: 1) ALD 抗体包被板的制备; 2) ALD 酶结合物的制备; 3) 配制不同浓度的 ALD 校准品; 4) ALD 质控品的制备; 5) 配制发光液 A 液和 B 液; 6) 配制 20 倍浓缩洗液; 7) 组装: 将上述试剂组装成盒, 储存于 2 ~ 8℃; 7) 对采用该方法制得的试剂盒进行物理检查, 并对准确度、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。本发明试剂盒与现有试剂盒相比操作简单, 灵敏度高, 特异性好。



1. 一种醛固酮 ALD 化学发光免疫定量检测试剂盒的制备方法,所述的试剂盒包含醛固酮 ALD 抗体包被板;

醛固酮 ALD 酶结合物;  
醛固酮 ALD 校准品;  
醛固酮 ALD 质控品;  
发光液 A 液和 B 液;  
20 倍浓缩洗液;

所述的醛固酮 ALD 抗体包被板是包被含有醛固酮 ALD 抗体的 96 孔或 48 孔的白色微孔板;所述的醛固酮 ALD 酶结合物使用的酶是辣根过氧化物酶,要求纯度  $RZ \geq 3.0$ ,活性  $\geq 250U/mL$ ;醛固酮 ALD 质控品包括低值质控品和高值质控品,其中低值质控品的浓度是  $156.16\text{pg/mL}$ ,高值质控品的浓度是  $2050.41\text{pg/mL}$ ;所述的发光液 A 包含  $0.7\text{g/L}$  鲁米诺和  $0.165\text{g/L}$  对碘酚;发光液 B 包含  $0.675\text{g/L}$  过氧化脲;所述的 20 倍浓缩洗液包含  $75.5\text{g/L}$  Tris,  $120\text{g/L}$  NaCl,  $5\text{mL/L}$  Tween-20,  $1\text{g/L}$  Proclin300;其特征在于包含以下步骤:1) 醛固酮 ALD 抗体包被板制备;包被板的制备包含如下步骤:

a 将醛固酮 ALD 抗体用  $0.02\text{mol/L}$  pH7.4 磷酸盐缓冲液稀释至  $1 \sim 10\text{ug/mL}$ ,加入到固相载体中, $2 \sim 8^\circ\text{C}$  包被  $20 \sim 24$  小时;

b 弃去孔内液体,用 pH7.4 PBS-T 缓冲液洗板,然后加入含有  $0.5\%$  BSA 的磷酸盐缓冲液封闭微孔板, $2 \sim 8^\circ\text{C}$  封闭  $20 \sim 24$  小时;

c 弃去孔内液体,甩干后于  $30 \sim 37^\circ\text{C}$  烘干  $16 \sim 30$  小时;

d 装入铝箔袋,加入干燥剂,封口,贴标签,储存于  $2 \sim 8^\circ\text{C}$ ;

2) 醛固酮 ALD 酶结合物的制备;所述的醛固酮 ALD 酶结合物的制备步骤如下:

a 将 O-(羧甲基)羟胺和醛固酮 ALD 溶解在乙醇中,使其浓度分别为  $5\text{mmol/L}$  和  $2\text{mol/L}$ ,在沸水浴中反应  $90\text{min}$ ;

b 浓缩后,加入  $40\text{mL}$  水,用乙醚抽提,抽提物用  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  干燥,将其溶于  $0.01\text{mol/L}$  的氢氧化钠溶液中,得 II 液;

c 将 EDC 溶解在 pH8.0 的 PBS 中,得 I 液;

d 将辣根过氧化物酶 HRP 溶于 pH7.4 的 PBS 缓冲液中,得 III 液;

e 将 II 液与 III 液混合,然后逐滴加入 I 液,在  $4^\circ\text{C}$  搅拌  $16$  小时,用  $0.01\text{M}$  磷酸缓冲盐溶液 PBS 使之充分透析;

3) 配制不同浓度的醛固酮 ALD 校准品;

4) 醛固酮 ALD 质控品的配制;

5) 配制发光液 A 液和 B 液;

6) 配制 20 倍浓缩洗液;

7) 组装:将上述试剂组装成盒,储存于  $2 \sim 8^\circ\text{C}$ ;

8) 对采用该方法制得的试剂盒进行物理检查,对其准确度、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,具体的涉及醛固酮(ALD)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(Hypertension)是一种世界性的常见疾病,世界各地的患病率高达10%~20%,并可导致脑血管、心脏、肾脏的病变,是危害人类健康的主要疾病。据卫生部最新数据,我国现有高血压患者2亿多人,随着经济发展,人民生活水平的提高,高血压已日益成为一个重要的公共卫生问题。

[0003] 醛固酮(aldosterone, ALD)是肾上腺皮质激素的一种,具有代表性的强电解质代谢作用的盐皮质类固醇。其作用是保钠排钾(增加 $\text{Na}^+$ 和 $\text{Cl}^-$ 的回放,排出 $\text{K}^+$ 和 $\text{H}^+$ )、维持电解质平衡与体液容量恒定。ALD是由肾上腺皮质球状带生成,并受肾脏分泌的血管紧张肽原酶,即血管紧张素的调节。

[0004] 醛固酮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。醛固酮是调节细胞外液容量和电解质的激素,醛固酮的分泌,是通过肾素-血管紧张素系统实现的。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。

[0005] 血浆中ALD水平的检测,对于原发性醛固酮增多症的诊断和疗效观察、Addisons病(阿狄森氏病又称原发性慢性肾上腺皮质机能减退症)的诊断及肾上腺皮质增生、继发性醛固酮增多症等的鉴别诊断有临床价值。

[0006] 目前临床上常用的测定醛固酮(ALD)的方法是放射免疫分析技术(RIA)和酶联免疫分析法(ELISA),但是这两种方法存在诸多不足,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;随着标记免疫技术的迅速发展,各种新的检测方法层出不穷,例如时间分辨免疫分析法、免疫荧光法、化学发光法等。其中,化学发光免疫分析(CLIA)是将化学发光和酶免疫分析结合在此技术上发展起来的,起步于80年代初,在90年代得到了快速发展和应用,是当今最为敏感的微量免疫测定法,具有灵敏度高(检测极限 $10^{-17} \sim 10^{-19}$ )、可测定物质浓度范围宽、试剂有效期长、操作简单快速、稳定性好、安全无环境污染等优点,目前已广泛应用到基础和临床医学的各个领域,成为取代RIA和ELISA的首选技术。但目前使用的化学发光免疫分析(CLIA)测定醛固酮(ALD)的灵敏度普遍低,而且测定范围较窄。

### 发明内容

[0007] 本发明要解决的问题是提供一种醛固酮(ALD)化学发光免疫定量检测试剂盒及其制备方法,解决了灵敏度低,检测范围窄的缺陷。

[0008] 为解决上述技术问题,本发明采用的技术方案是:醛固酮化学发光免疫定量检测试剂盒,包含:

[0009] ALD 抗体包被板;

[0010] ALD 酶结合物;

[0011] ALD 校准品;

[0012] ALD 质控品;

[0013] 发光液 A 和发光液 B;

[0014] 20 倍浓缩洗液。

[0015] 其中,所述的 ALD 抗体包被板的固相载体为 96 孔或 48 孔的白色微孔板;所述的 ALD 酶结合物使用的酶是辣根过氧化物酶。所述的 ALD 质控品包括低值质控品(QcL)和高值质控品(QcH),其中低值质控品的浓度范围是 124.93 ~ 187.39pg/mL,高值质控品的浓度范围是 1640.33 ~ 2460.50pg/mL。所述的发光液 A 包含 0.7g/L 鲁米诺和 0.165g/L 对碘酚;发光液 B 包含 0.675g/L 过氧化脲;所述的 20 倍浓缩洗液包含 75.5g/L Tris,120g/L NaCl,5mL/L Tween-20,1g/L Proclin300。

[0016] 本发明还提供了上述试剂盒的制备方法,包含以下步骤:

[0017] 1)ALD 抗体包被板制备;

[0018] 包被板制备包括以下步骤:

[0019] a 将 ALD 抗体用 0.02M pH7.4 磷酸盐缓冲液稀释至 1 ~ 10ug/mL,加入到固相载体中,2 ~ 8°C 包被 20 ~ 24 小时;

[0020] b 弃去孔内液体,用 pH7.4PBS-T 缓冲液洗板,然后加入含有 0.5% BSA 的磷酸盐缓冲液封闭微孔板,2 ~ 8°C 封闭 20 ~ 24 小时;

[0021] c 弃去孔内液体,甩干后于 30 ~ 37°C 烘干 16 ~ 30 小时;

[0022] d 装入铝箔袋,加入干燥剂,封口,贴标签,储存于 2 ~ 8°C。

[0023] 2) 用辣根过氧化物酶标记 ALD,得 ALD 酶结合物;

[0024] ALD 酶结合物的制备包括以下步骤:

[0025] a 将 O-(羧甲基)羟胺和 ALD 溶解在乙醇中,使其浓度分别为 5m mol/L 和 2m mol/L,在沸水浴中反应 90min;

[0026] b 浓缩后,加入 40mL 水,用乙醚抽提,抽提物用 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥,将其溶于 0.01mol/L 的氢氧化钠溶液中,得 II 液;

[0027] c 将 EDC 溶解在 pH8.0 的 PBS 缓冲液中,得 I 液;

[0028] d 将 HRP 溶于 pH7.4 的 PBS 缓冲液中,得 III 液;

[0029] e 将 II 液与 III 液混合,然后逐滴加入 I 液,在 4°C 搅拌 16 小时,用 0.01MPBS 使之充分透析。

[0030] 3) 配制不同浓度的 ALD 校准品:将 ALD 用校准品稀释液稀释成不同浓度的校准品,浓度分别为 0,40,120,360,1000,3000pg/mL;

[0031] 4) 质控品的配制:在正常人血清中加入适量的 ALD 纯品,配制低值质控品(QcL)和高值质控品(QcH),其浓度的平均值分别为 156.16pg/mL 和 2050.41pg/mL。

[0032] 5) 配制发光液 A,发光液 B;

[0033] 6) 配制 20 倍浓缩洗液;

[0034] 7) 组装 :将上述试剂组装成盒,储存于 2 ~ 8℃ ;

[0035] 8) 对采用该方法制得的试剂盒进行物理检查,并对准确度、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。

[0036] 辣根过氧化物酶 (HRP) 纯度要求  $RZ \geq 3.0$ , 活性  $\geq 250U/mL$ 。

[0037] 根据本发明的方法, ALD 抗体包被板是包被含有 ALD 抗体的 96 孔或 48 孔的白色微孔板 ;所述的 ALD 酶结合物使用的酶是辣根过氧化物酶 ;所述的发光液 A 包含鲁米诺和对碘酚,发光液 B 包含过氧化脲。

[0038] 本发明方法制备的试剂盒采用如下具体形式,其包含 ALD 抗体包被的 96 孔或 48 孔的白色微孔板、辣根过氧化物酶标记的 ALD、不同浓度的 ALD 校准品、发光液 A 液为鲁米诺和对碘酚、发光液 B 液为过氧化脲、20 倍浓缩洗液为配方为 75.5g/L Tris, 120g/L NaCl, 5mL/L Tween-20, 1g/L Proclin300。

[0039] ProClin 300 以其广谱活性、优越的兼容性和稳定性及其在使用浓度下的低毒性, ProClin 300 成为用于诊断试剂的理想高效防腐剂。Proclin 300 防腐剂可在更长的时间内根除细菌、真菌及酵母,从而延长产品的储存时间。其水溶性确保其可轻易溶入所需试剂中。特别是,ProClin 300 防腐对大多数的酶或抗体交联反应的功能无影响,所以不会干扰检验指示剂。

[0040] 本发明的醛固酮 (ALD) 定量检测试剂盒,采用目前最为敏感的免疫测定方法——化学发光免疫分析技术,醛固酮 (ALD) 定量检测试剂盒 (化学发光法) 采用竞争法检测人血清、血浆中的醛固酮含量。样本加到固相含有 ALD 抗体的白色不透明的板条微孔中,再加入 ALD- 辣根过氧化物酶 (HRP) 结合物,此酶结合物与样本中的 ALD 竞争结合固相 ALD 抗体。洗掉游离成分。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 5-15 分钟测定各加样本孔的发光值 RLU。样本的 RLU 与其中的 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 建立的数学模型进行定量,从而检测人血清、血浆中的 ALD 含量。

[0041] 本发明具有以下优点 : (1) 本试剂盒利用化学发光免疫技术测定血浆样本。操作简便,适用于临床常规检测 ; (2) 灵敏度高,分析灵敏度不高于 15pg/mL ; (3) 本产品的特异性良好,本产品对血管紧张素 I, 血管紧张素 II、血管紧张素 1 ~ 7 的交叉特异性均小于 1% ; (4) 精密度良好,批内精密度不高于 15%,批间精密度不高于 20% ; (5) 稳定性良好,经 37℃ 加速稳定性及 2 ~ 8℃ 真实稳定性试验证实,本产品可在 37℃ 可存放 7 天以上,在 2 ~ 8℃ 可存放 1 年 ; (6) 特异性强,反应快速,可在 65 分钟内判断检测结果,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、试剂有效期长、稳定性好等优点。性能优于 RIA、Elisa 产品,达到了国际先进水平,成本较低。

## 附图说明

[0042] 图 1 是本发明的博奥赛斯化学发光试剂盒测定 ALD 与美国贝克曼库尔特有限公司的放免试剂盒测定 ALD 的测定结果比较图,其中纵坐标为博奥赛斯测得的 ALD 值,横坐标为放免试剂盒测定 ALD 值,两种方法相关系数  $(r) = 0.9719$ , 直线方程  $y = 0.9761x + 6.0824$ 。

## 具体实施方式

[0043] 实施例 1 :制备醛固酮化学发光免疫定量检测试剂盒

[0044] 醛固酮化学发光免疫定量检测试剂盒,包含 :

[0045] 1)ALD 抗体包被的 96 孔白色微孔板 ;

[0046] 2)ALD- 辣根过氧化物酶 (HRP) 结合物 ;

[0047] 3)ALD 校准品 ;

[0048] 4)ALD 质控品 ;

[0049] 5) 发光液 A 液和发光液 B 液,发光液 A 液包含鲁米诺和对碘酚,发光液 B 液包含过氧化脲 ;

[0050] 6)20 倍浓缩洗液的配方为 75.5g/L Tris,120g/L NaCl,5mL/L Tween-20,1g/L Proclin300,Proclin300 选自美国 sigma 公司。

[0051] 通过下述方法制备醛固酮 (ALD) 化学发光免疫定量检测试剂盒

[0052] 1) 包被 :将 ALD 抗体用 0.02M 磷酸盐缓冲液稀释至 1 ~ 10ug/mL,加入到 96 孔白色微孔板中,2 ~ 8℃包被 20 ~ 24 小时 ;弃去孔内液体,用 pH7.4PBS-T 缓冲液洗板,然后加入含 0.5% BSA 的磷酸盐缓冲液封闭微孔板,2 ~ 8℃封闭 20 ~ 24 小时 ;弃去孔内液体,甩干后于 30 ~ 37℃烘干 16 ~ 30 小时 ;装入铝箔袋,加入干燥剂,封口,贴标签,储存于 2 ~ 8℃。

[0053] 2)ALD 酶结合物的制备步骤如下 :

[0054] a 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 2m mol/L,在沸水浴中反应 90min ;

[0055] b 浓缩后,加入 40mL 水,用乙醚抽提,抽提物用 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,将其溶于 0.01mol/L 的氢氧化钠溶液中,得 II 液 ;

[0056] c 将 EDC 溶解在 pH8.0 的 PBS 缓冲液中,得 I 液 ;

[0057] d 将 HRP 溶于 PH7.4 的 PBS 缓冲液中,得 III 液 ;

[0058] e 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。

[0059] 3) 配制不同浓度的 ALD 校准品 :将 ALD 用校准品稀释液稀释成不同浓度的校准品,浓度分别为 0,40,120,360,1000,3000pg/mL ;

[0060] 4) 质控品的配制 :在正常人血清中加入适量的 ALD 纯品,配制低值质控品 (QcL) 和高值质控品 (QcH),其浓度的平均值分别为 156.16pg/mL 和 2050.41pg/mL。

[0061] 5) 配制发光液 A 液和 B 液 :

[0062] 发光液 A 液包含 0.7g/L 鲁米诺和 0.165g/L 对碘酚,缓冲液为 5mmol/L Tris • HCl (pH8.6) ;B 液包含 0.675g/L 过氧化脲,用工艺用水配制

[0063] 6) 配制 20 倍浓缩洗液 :

[0064] 按照下述配方配制浓缩洗液,75.5g/L Tris,120g/L NaCl,5mL/L Tween-20,1g/L Proclin300。

[0065] 7) 组装 :将上述试剂组装成盒,储存于 2 ~ 8℃ ;其中包含发光液 A、发光液 B、20 倍浓缩洗液、ALD 酶结合物各 1 瓶,ALD 抗体包被板 1 块,ALD 校准品 6 瓶、ALD 质控品 2 瓶。

[0066] 8) 对采用该方法制得的试剂盒进行物理检查,并对准确度、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。

[0067] 说明：

[0068] (1) 物理检查：在外观上液体组分应澄清，无沉淀或絮状物；其他组分应无包装破损。

[0069] (2) 准确性：试剂盒校准品与企业标准品系列同时进行分析测定，用  $\text{Log}(X) - \text{Logit}(Y)$  数学模型拟合，要求两条剂量 - 反应曲线不显著偏离平行 ( $t$  检验， $|t| < 2.447$ )；以企业标准品为对照品，用  $\text{Log}(X) - \text{Logit}(Y)$  数学模型拟合，试剂盒校准品的实测值与标示值比值的平均值应在 0.90 ~ 1.10 范围内。

[0070] 企业校准品的配制方法如下：将高纯度的醛固酮 (ALD) 用稀释液 (含牛血清白蛋白的磷酸盐缓冲液) 稀释为系列梯度，其浓度分别为 40、120、360、1000、3000pg/mL，并以不含 ALD 的稀释液作为零值对照。

[0071] (3) 剂量 - 反应曲线的线性：用  $\text{Log}(X) - \text{Logit}(Y)$  数学模型拟合，剂量 - 反应曲线在 0 ~ 3000pg/mL 浓度范围内相关系数  $r$  绝对值不低于 0.9900。

[0072] (4) 分析灵敏度：试剂盒分析灵敏度不高于 15pg/mL。

[0073] (5) 精密度：批内不精密度 (CV%) 应不高于 15.0%；批间不精密度 (CV%) 应不高于 20.0%。

[0074] (6) 质控品测定值：平行测定 10 孔高值和低值的质控品，用  $\text{Log}(X) - \text{Logit}(Y)$  数学模型拟合，质控品测值应在允许范围内，QcL 和 QcH 的允许范围分别为 124.92 ~ 187.39pg/mL 和 1640.33 ~ 2460.50pg/mL。

[0075] (7) 特异性：交叉反应应符合下表要求。

[0076]

交叉反应因子	浓度	测定值
血管紧张素 I (Ang I)	5ng/mL	<50pg/mL
血管紧张素 II (Ang II)	5ng/mL	<50pg/mL
血管紧张素 1~7 (Ang1~7)	5ng/mL	<50pg/mL

[0077] (8) 稳定性：37℃放置 7 天，测定值应符合上述要求。

[0078] 实施例 2：制备醛固酮化学发光免疫定量检测试剂盒

[0079] 除固相载体为 48 孔的微孔板外，以与实施例 1 一样的方法制备本发明试剂盒。

[0080] 实施例 3：本发明试剂盒的使用方法

[0081] 1) 将本试剂盒从 4℃冰箱中取出，在室温 (18 ~ 25℃) 下平衡 30 分钟。

[0082] 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。

[0083] 3) 根据实验需要取出适量的包被板条。设置空白对照 1 孔，校准品各 2 孔、质控品各 10 孔。每孔分别加入 ALD 校准品、质控品和样品 50  $\mu$ L，空白对照不加校准品、质控品和样本。

[0084] 4) 每孔加入 ALD 酶结合物 50  $\mu$ L，空白对照孔除外。

[0085] 5) 手工或机器轻轻振荡 10 秒混匀，用盖板膜将板孔盖好，在 37℃下反应 60 分钟。

[0086] 6) 揭去盖板膜,吸出或倒出反应液后,加入洗液洗五次,洗液量每次每孔不少于 300  $\mu\text{L}$ ,浸泡时间 10 秒,吸出或倒出洗液后拍干。也可用洗板机洗涤。

[0087] 7) 每孔加入发光液 100  $\mu\text{L}$ (发光液 A 和 B 在使用前 5min 按等体积混合),包含空白对照孔。

[0088] 8) 室温 (18 ~ 25 $^{\circ}\text{C}$ ) 暗置 5 分钟,在化学发光免疫分析仪上测定发光值。

[0089] 实施例 4 本试剂盒临床试验

[0090] 本专利发明的试剂盒已进行了临床考核,本次临床试验选取 110 例临床样本,先以美国贝克曼库尔特有限公司生产的醛固酮放免药盒测试后,再用本专利发明的试剂盒(化学发光法)进行测定,对其进行了配对 t 检验、线性相关分析及卡方检验并评价。结果证明,两者间测定值无显著性差异,并且线性相关性极佳,临床灵敏度为 97.37%、特异性为 98.61%、粗一致性为 98.18%,在临床符合率方面有很好的一致性,本试剂盒对对 ALD 的测值有效,可推广临床应用。

[0091] 为了确定本试剂盒的参考值,对天津市 600 份正常人血清、血浆样本采用本发明的试剂盒进行了测定,结果表明本试剂盒的正常参考值(参考范围)(2.5%~97.5%)为:

[0092] 普食:卧位 60 ~ 180pg/mL

[0093] 立位 70 ~ 300pg/mL

[0094] 低钠:卧位 120 ~ 360pg/mL

[0095] 立位 150 ~ 650pg/mL

[0096] 实施例 5 将本发明试剂盒与国内外同类产品进行比较

[0097] 表 1 本产品与国内外同类产品的比较

[0098]

	博奥赛斯	IBL	美国贝克曼库尔特 有限公司
检测原理	CLIA	ELISA	RIA
反应类型	竞争法	竞争法	竞争法
标记物	HRP	HRP	$^{125}\text{I}$
灵敏度	15pg/mL	10pg/mL	6pg/mL
检测范围	40~3000pg/mL	44.2~414.2pg/mL	6~2000pg/mL
发光底物	鲁米诺	TMB	$^{125}\text{I}$
检测成本	低	低	低

[0099] 从表 1 比较结果看出本试剂盒的成本低,灵敏度与 ELISA 和 RIA 相差不大,但其检测范围较 ELISA 宽,且可以有效地避免了 RIA 的放射性污染、标记物半衰期短、操作繁琐等缺点。

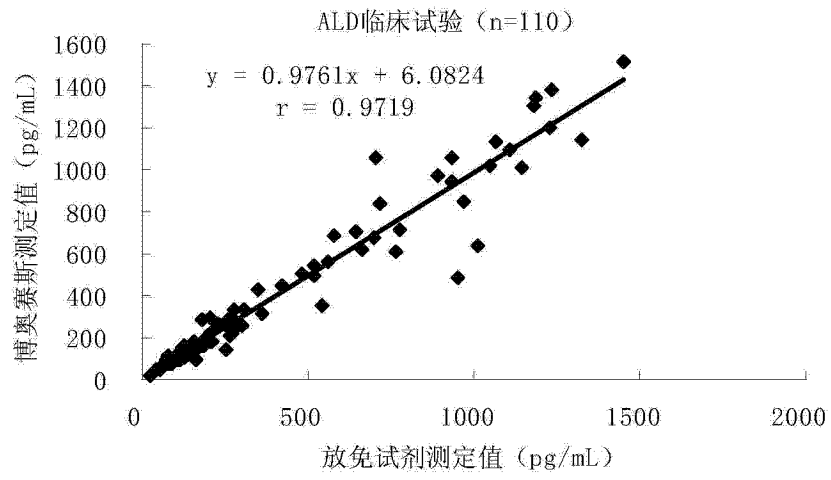


图 1

专利名称(译)	醛固酮化学发光免疫定量检测试剂盒及其制备方法		
公开(公告)号	<a href="#">CN102735679B</a>	公开(公告)日	2015-07-15
申请号	CN201210212824.6	申请日	2012-06-26
[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	G01N21/76 G01N33/535 G01N33/74		
代理人(译)	李莉华		
其他公开文献	CN102735679A		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本发明公开了一种醛固酮ALD化学发光免疫定量检测试剂盒，本发明试剂盒包含ALD抗体包被板、ALD酶结合物、ALD校准品、ALD质控品、发光液A液和B液、20倍浓缩洗液。制备本发明试剂盒包含以下步骤：1) ALD抗体包被板的制备；2) ALD酶结合物的制备；3) 配制不同浓度的ALD校准品；4) ALD质控品的制备；5) 配制发光液A液和B液；6) 配制20倍浓缩洗液；7) 组装：将上述试剂组装成盒，储存于2~8℃；7) 对采用该方法制得的试剂盒进行物理检查，并对准确度、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。本发明试剂盒与现有试剂盒相比操作简单，灵敏度高，特异性好。

