



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104808002 A

(43) 申请公布日 2015. 07. 29

(21) 申请号 201510184810. 1

(22) 申请日 2015. 04. 17

(71) 申请人 南京格耀生物科技有限公司

地址 210012 江苏省南京市溧水区永阳镇天生桥大道 688 号科创中心

(72) 发明人 杨子学 董梅 滕娇

(74) 专利代理机构 北京天平专利商标代理有限公司 11239

代理人 缪友菊

(51) Int. Cl.

G01N 33/68(2006. 01)

G01N 33/543(2006. 01)

G01N 33/531(2006. 01)

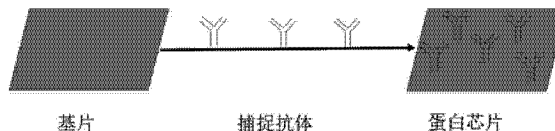
权利要求书2页 说明书7页 附图1页

(54) 发明名称

一种急症腹痛早期筛查的蛋白芯片及其制备方法和应用

(57) 摘要

本发明提出了一种用于急症腹痛早期筛查的蛋白质芯片,包括基片和阵列式分布于所述基片上的蛋白检测指标涂层和对照检测指标涂层,其中,所述蛋白检测指标包括 TPS II 抗体、hs-CRP 抗体、SSA 抗体、PCT 抗体及抵抗素抗体,所述对照检测指标包括样品对照标志物、阳性对照标志物、阴性对照标志物和试剂对照标志物,使用本发明不仅具有灵敏度高、特异性强、结果稳定、重复性好等优点,而且操作简便、一次即可,既方便了医务工作者,提高了劳动效率,节省国家财力,又使患者在省钱的同时更早诊更早治,提高治愈率。同时,把相关指标高度集成,能提高判断的准确性,特别利于早期诊断。



1. 一种用于急症腹痛早期筛查的蛋白质芯片,包括基片和阵列式分布于所述基片上的目标蛋白检测指标涂层和对照检测指标涂层,其特征在于,所述目标蛋白检测指标涂层由将目标蛋白抗体点样到所述基片上得到,所述目标蛋白抗体包括胰蛋白酶原-2抗体、超敏C反应蛋白抗体、血清淀粉样蛋白A抗体、降钙素原抗体及抵抗素抗体,所述对照检测指标涂层包括样品对照标志物、阳性对照标志物、阴性对照标志物和试剂对照标志物,其中,所述样品对照标志物为人血清抗原;阳性对照标志物为在正常人血清中分别添加胰蛋白酶原-2、超敏C反应蛋白、血清淀粉样蛋白A、降钙素原及抵抗素标准品制得,所述的阴性对照标志物为正常人血清。

2. 根据权利要求1所述的用于急症腹痛早期筛查的蛋白质芯片,其特征在于,所述的阳性标志物中,胰蛋白酶原-2、超敏C反应蛋白、血清淀粉样蛋白A、降钙素原及抵抗素的添加量分别为正常血清中胰蛋白酶原-2、超敏C反应蛋白、血清淀粉样蛋白A、降钙素原及抵抗素含量的临界值的3倍。

3. 根据权利要求1所述的用于急症腹痛早期筛查的蛋白质芯片,其特征在于,所述的基片为玻璃基片或塑料基片,所述蛋白检测指标和对照检测指标分别在所述基片上进行多次重复点样形成阵列式点样涂层,每个阵列重复多次。

4. 权利要求1所述的急症腹痛早期筛查的蛋白质芯片的制备方法,其特征在于,包括如下步骤:

(1) 准备玻璃基片或塑料基片,上述玻璃基片或塑料基片上自带有醛基;

(2) 确定点阵的排列方式和点样位置,将胰蛋白酶原-2、超敏C反应蛋白、血清淀粉样蛋白A、降钙素原和抵抗素与样品对照标志物、阳性对照标志物、阴性对照标志物和试剂对照标志物同时点阵与同一张基片的不同位置,构成阵列式点样涂层,每个阵列重复若干次;

(3) 根据样品数量设计阵列排布,使用高速全自动点样机器人将目标抗体以及样品对照标志物抗体、阳性对照标志物的抗体和阴性对照标志物的抗体点阵于基片上,使得上述目标抗体通过化学键固定在基片上,室温放置16小时以上,并置于4℃保存,其中,所述目标抗体包括胰蛋白酶原-2抗体、超敏C反应蛋白抗体、血清淀粉样蛋白A抗体、抗降钙素原抗体和抗抵抗素抗体;

(4) 最后,利用制作蛋白芯片的常规方法进行封闭、洗涤、干燥、包装、保存。

5. 权利要求1所述的蛋白质芯片在急症腹痛早期筛查中应用。

6. 根据权利要求5所述的应用,其特征在于,包括如下步骤:

(1) 将待检测血清滴加于所述蛋白质芯片表面,37℃孵育1~1.5小时;

(2) 待检测血清中的胰蛋白酶原-2、超敏C反应蛋白、血清淀粉样蛋白A、降钙素原和抵抗素将分别与固定在蛋白质芯片上的相应抗体结合,用低浓度钠盐洗去多余样品;

(3) 加封闭液进行封闭,再次洗脱并晾干;

(4) 加入封闭液稀释过的荧光标记的抗胰蛋白酶原-2抗体、抗超敏C反应蛋白抗体、抗血清淀粉样蛋白A抗体、抗降钙素原抗体及抗抵抗素抗体的混合物,37℃孵育半小时后洗去未结合物并晾干;

(5) 反应结束后,利用芯片扫描分析仪进行结果的判读,其中,样品点的荧光强度与血清中的胰蛋白酶原-2、超敏C反应蛋白、血清淀粉样蛋白A、降钙素原及抵抗素的含量成正

比。

7. 根据权利要求 6 所述的应用,其特征在于,步骤(2)中,所述的低浓度钠盐的浓度为 0.6wt%~0.9wt%。

8. 根据权利要求 6 所述的应用,其特征在于,步骤(3)中,所述的洗脱液为 pH6.0 的 PBS 缓冲液。

一种急症腹痛早期筛查的蛋白芯片及其制备方法和应用

技术领域

[0001] 本发明急症腹痛早期筛查的蛋白芯片涉及一种蛋白质芯片,蛋白质芯片技术是将蛋白或多肽有序地点阵在固体基片上,利用免疫学方法对蛋白质进行检测、识别、鉴定的新兴技术。

背景技术

[0002] 急症腹痛 (acute abdominal pain) 是急诊患者最常见的病症之一。其就诊全年均可出现,高峰分别是秋季 (9 ~ 11 月) 和夏季 (6 ~ 8 月),就诊年龄集中在 15 ~ 44 岁之间 (占就诊总数的 72.7%)。常涉及内、外、儿、妇产甚至神经、精神各科的疾病。其主要病因是腹腔内脏器官发生病变、结构机能失常、腹外邻近器官损伤和 / 或全身性疾病所致。据统计,非创伤性急症腹痛疾病中急性胰腺炎的发病率最高,其次是急性胃肠炎、急性肠梗阻、急性阑尾炎、急性胆管炎、溃疡急性穿孔等。该类疾病往往具有发病急、变化快、病情复杂且严重等特点,加之,目前医院急诊科临床医生趋于年轻化,在急诊诊断方面经验不足,容易诊断有误或治疗欠妥,这样可能造成不良后果,甚至死亡。因此,对急症腹痛的诊断要求较高,能否及时做出明确的诊断,进行合理的治疗,将直接影响着疾病的治疗与预后。针对此现象,本发明研制出通过联合检测血清中胰蛋白酶原 -2 (TPS II)、血清淀粉样蛋白 A (SSA)、超敏 C 反应蛋白 (hs-CRP)、降钙素原 (PCT) 与抵抗素进行急症腹痛疾病早期筛查的蛋白芯片,对急症腹痛常见的急性胰腺炎、急性阑尾炎、急性腹膜炎、急性胃肠炎与溃疡性急性穿孔进行排除。

[0003] 目前,国外在临床急症腹痛的检测方面,主要通过结合患者病史,进行体格检查、实验室辅助检查,根据患者病情选择性地对血糖、妊娠试验、血电解质、肝肾功能、腹部 CT 检查、腹腔诊断性穿刺以及腹水分析等检查分析,然后综合考虑,提出相应的治疗方案。此外,还采用对急症腹痛患者尿胰蛋白酶原 -2 的检测,进行急性胰腺炎的排查,但对于急症腹痛相关的其他疾病的排查尚没有相关生物标记物的报道。在国内,对于急症腹痛的临床检测与国外临床检测相似,但 TPS II 在国外临床诊断中的应用开展较早,而在国内是近两年陆续才开始在三级甲等医院走入临床应用,它的临床应用价值依旧处于进一步的探索中。本发明利用蛋白芯片对急症腹痛患者血清中 TPS II、SSA、hs-CRP、PCT 与抵抗素进行联合检测,对急症腹痛常见疾病进行排查,为临床医生做出及时合理的诊断提供辅助工具。

发明内容

[0004] 发明目的:为解决现有技术中存在的技术问题,本发明提供一种急症腹痛早期筛查的蛋白质芯片,该蛋白质芯片可以同时测定血浆中胰蛋白酶原 -2 (TPS II)、超敏 C 反应蛋白 (hs-CRP)、血清淀粉样蛋白 A (SSA)、降钙素原 (PCT) 及抵抗素 (resistin) 的含量,从而通过一次检测,既可实现对急症腹痛的相关疾病进行排查的灵敏度高、精确性好并且方便快捷的蛋白芯片检测技术,帮助临床医生对急症腹痛相关疾病做出及时诊断,也为病情评估或预后判断进行辅助判断。

[0005] 技术方案:为实现上述技术目的,本发明提出了一种用于急症腹痛早期筛查的蛋白质芯片,包括基片和阵列式分布于所述基片上的目标蛋白检测指标和对照检测指标涂层,所述目标蛋白检测指标涂层由目标蛋白抗体点样到所述基片上得到,所述目标蛋白抗体包括胰蛋白酶原-2抗体、超敏C反应蛋白抗体、血清淀粉样蛋白A抗体、降钙素原抗体及抵抗素抗体,所述对照检测指标涂层包括样品对照标志物、阳性对照标志物、阴性对照标志物和试剂对照标志物,其中,所述的样品对照标志物为人血清抗原;阳性对照标志物为在正常人血清中分别添加中胰蛋白酶原-2、超敏C反应蛋白、血清淀粉样蛋白A、降钙素原及抵抗素标准品制得,所述的阴性对照标志物为正常人血清。其中正常人血清TPS II的含量低于 $50\mu\text{g/L}$,SSA的含量低于 0.5ng/mL ,hs-CRP含量低于 3mg/L ,PCT的含量低于 0.5ng/mL ,抵抗素的含量低于 14ng/mL 。

[0006] 优选地,所述的阳性标志物中,胰蛋白酶原-2、超敏C反应蛋白、血清淀粉样蛋白A、降钙素原及抵抗素的添加量为正常血清中胰蛋白酶原-2、超敏C反应蛋白、血清淀粉样蛋白A、降钙素原及抵抗素含量的临界值的3倍。其中,正常血清中TPS II、SSA、hs-CRP、PCT与抵抗素含量的临界值分别为 $50\mu\text{g/L}$ 、 0.5ng/mL 、 3mg/L 、 0.5ng/mL 、 14ng/mL 。

[0007] 优选地,所述的基片为玻璃基片或塑料基片,所述蛋白检测指标和对照检测指标分别在所述基片上进行多次重复点样形成阵列式点样涂层,每个阵列重复多次,优选地,上述重复次数为6~8次。

[0008] 本发明进一步提出了上述急症腹痛早期筛查的蛋白质芯片的制备方法,包括如下步骤:

[0009] (1) 准备玻璃基片或塑料基片,上述玻璃基片或塑料基片上自带有醛基;

[0010] (2) 确定点阵的排列方式和点样位置,将胰蛋白酶原-2、超敏C反应蛋白、血清淀粉样蛋白A、降钙素原和抵抗素与样品对照标志物、阳性对照标志物、阴性对照标志物和试剂对照标志物同时点阵与同一张基片的不同位置,构成阵列式点样涂层,每个阵列重复若干次;

[0011] (3) 根据样品数量设计阵列排布,使用高速全自动点样机器人将目标抗体以及样品对照标志物抗体、阳性对照标志物的抗体和阴性对照标志物的抗体点阵于基片上,使得上述目标抗体通过化学键固定在基片上,室温放置16小时以上,并置于 4°C 保存,其中,所述目标抗体包括胰蛋白酶原-2抗体、超敏C反应蛋白抗体、血清淀粉样蛋白A抗体、抗降钙素原抗体和抗抵抗素抗体;

[0012] (4) 最后,利用制作蛋白芯片的常规方法进行封闭、洗涤、干燥、包装、保存。

[0013] 本发明更进一步地提出了所述的蛋白质芯片在急症腹痛早期筛查中应用。

[0014] 具体地,在应用中按照如下步骤进行:

[0015] (1) 将待检测血清滴加于所述蛋白质芯片表面, 37°C 孵育1~1.5小时;

[0016] (2) 待检测血清中的胰蛋白酶原-2、超敏C反应蛋白、血清淀粉样蛋白A、降钙素原和抵抗素将分别与固定在蛋白质芯片上的相应抗体结合,用低浓度钠盐洗去多余样品;

[0017] (3) 加封闭液进行封闭,再次洗脱并晾干;

[0018] (4) 加入封闭液稀释过的荧光标记的抗胰蛋白酶原-2抗体、抗超敏C反应蛋白抗体、抗血清淀粉样蛋白A抗体、抗降钙素原抗体及抗抵抗素抗体的混合物, 37°C 孵育半小时后洗去未结合物并晾干;

[0019] (5) 反应结束后,利用芯片扫描分析仪进行结果的判读,其中,样品点的荧光强度与血清中的胰蛋白酶原-2、超敏 C 反应蛋白、血清淀粉样蛋白 A、降钙素原及抵抗素的含量成正比。

[0020] 优选地,步骤(2)中,所述的低浓度钠盐的浓度为 0.6wt%~0.9wt%。

[0021] 优选地,步骤(3)中,所述的洗脱液为 pH6.0 的 PBS 缓冲液。

[0022] 本发明提出了一种可以同时测定血浆中 TPS II、SSA、hs-CRP、PCT 和抵抗素的蛋白芯片,所述蛋白芯片由基片和阵列式分布于基片上的蛋白检测指标涂层及对照检测指标涂层组成。其中,蛋白检测指标涂层包括胰蛋白酶原-2(TPS II)、超敏 C 反应蛋白(hs-CRP)、血清淀粉样蛋白 A(SSA)、降钙素原(PCT)及抵抗素(resistin),对照检测指标涂层包括样品对照标志物、阳性对照标志物、阴性对照标志物、试剂对照标志物。通过物理固定方法将各个检测指标固定于涂层上,即在涂布偶氮聚合物的玻璃基片上点样抗原等蛋白质。用光线照射后,偶氮聚合物产生顺式异构体-反式异构体的交替变换,蛋白质逐渐陷入偶氮聚合物内部。停止光照后,偶氮聚合物重新凝固成固体,蛋白质就实现了在基片上面的物理固定,基片是玻璃基片。将 TPS II、SSA、hs-CRP、PCT 和抵抗素生物标志物,与样品对照、阳性对照、阴性对照和试剂对照构成阵列式点样涂层,同时点阵于一张基片上,每个阵列重复 16 组,该组数可以根据具体的需求进行放大或缩小。

[0023] 上述芯片涂层上的每个阵列中每个蛋白检测指标有 3 个重复点,对照指标也有 3 个重复点。阵列的多少和大小与所检测的蛋白标志物的多少、基片大小以及点样的大小直接有关,其中与被检测的标记物的数量及基片的大小呈正相关,与点样的大小呈负相关。

[0024] 有益效果:与现有技术相比,本发明具有如下优点:

[0025] (1) 灵敏度高、检测方便、耗时短,且能同时检测多种急症腹痛相关的生物标记物,节约了样本的消耗量,同时也节省了人力、物力与财力;

[0026] (2) 所述的标志物抗体均为单克隆抗体,所述单克隆抗体均通过单克隆杂交瘤细胞技术制备得到或者通过噬菌体抗体技术筛选得到;

[0027] (3) 通过血清 TPS II 与 hs-CRP 的联合检测,对急性胰腺炎急性排查;

[0028] (4) 通过联合检测血清中 PCT 与 hs-CRP 的含量,及时、有效地完成急性腹膜炎的诊断排查,有助于临床疗效的观察;

[0029] (5) 通过血清 SSA 与 hs-CRP 的联合检测,对急性阑尾炎进行排查;

[0030] (6) 通过对患者血清中抵抗素与 hs-CRP 的含量的检测,对溃疡性急性穿孔进行排查;此外,血清 hs-CRP 的水平对急性胃肠炎、急性胆管炎及急性肠梗阻等炎症疾病的早期诊断也存在有效价值。

附图说明

[0031] 图 1 急症腹痛早期筛查蛋白芯片的检测原理示意图。

具体实施方式

[0032] 实施例 1 一种急症腹痛早期筛查的蛋白芯片的制备。

[0033] 其步骤主要是:(1) 准备玻璃基片或者塑料基片,上述玻璃基片或塑料基片上自带有醛基;(2) 设计芯片,确定点阵的排列方式和点样位置,将 TPS II、SSA、hs-CRP、PCT 和

抵抗素生物标志物,与样品对照标志物、阳性对照标志物、阴性对照标志物和试剂对照标志物构成阵列式点样涂层,同时点阵于一张基片上,每个阵列重复 16 组;(3)用高速全自动点样机器人把急症腹痛生物标记物抗体及阳性对照物抗体、阴性对照物抗体点阵于所述的基片上;(4)装配基片,并且进行封闭、干燥、包装、保存。

[0034] 其中,样品对照标志物为人血清抗原;阳性对照标志物为在正常人血清中分别添加中胰蛋白酶原-2、超敏 C 反应蛋白、血清淀粉样蛋白 A、降钙素原及抵抗素标准品制得,所述的阴性对照标志物为正常人血清。其中正常人血清 TPS II 的含量低于 50 $\mu\text{g/L}$, SSA 的含量低于 0.5ng/mL, hs-CRP 含量低于 3mg/L, PCT 的含量低于 0.5ng/mL, 抵抗素的含量低于 14ng/mL。阳性标志物中,胰蛋白酶原-2、超敏 C 反应蛋白、血清淀粉样蛋白 A、降钙素原及抵抗素的添加量为正常血清中胰蛋白酶原-2、超敏 C 反应蛋白、血清淀粉样蛋白 A、降钙素原及抵抗素含量的临界值的 3 倍。其中,正常血清中 TPS II、SSA、hs-CRP、PCT 与抵抗素含量的临界值分别为 50 $\mu\text{g/L}$, 0.5ng/mL, 3mg/L, 0.5ng/mL, 14ng/mL。

[0035] 上述用于检测急症腹痛相关的五种生物标记物的蛋白芯片的制备方法具体包括以下步骤:

[0036] 1、检测指标抗原与抗体的确定:

[0037] 所述的 TPS II、SSA 抗原均购自北京傲锐东源生物科技有限公司 (OriGene)、所述的 hs-CRP 抗原购自亚诺法生技公司 (Abnova), 所述的 PCT 和抵抗素抗原均购自 MyBioSource 公司。

[0038] 所采用的检测抗体对均为小鼠杂交瘤单克隆抗体对,其检测精度和准确度明显优于多克隆抗体,所用抗体分别来源于:人胰蛋白酶原-2(TPS II)单克隆抗体货号 FR-A-021, 购买自上海研拓生物科技有限公司;人超敏 C 反应蛋白 (hs-CRP) 单克隆抗体货号 TM011, 购买自大庆麦伯康生物技术有限公司;人血清淀粉样蛋白 A(SSA)单克隆抗体货号 A90885Hu01, 购买自上海武昊经贸有限公司;人血清降钙素原 (PCT) 单克隆抗体货号 901010, 购买自广州市格瑞林生物科技有限公司;人血清抵抗素单克隆抗体货号 A90847Hu01, 购买自上海武昊经贸有限公司。

[0039] 2、点样制备检测指标涂层的膜芯片

[0040] 用高速全自动点样机器人把急症腹痛生物标记物抗体及阳性对照、阴性对照点阵于蛋白芯片上,点阵形式大小为 14 \times 15 矩形阵列。点样后贴膜,封闭;最后将芯片干燥、包装后于 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

[0041] 实施例 2 急症腹痛早期筛查的蛋白芯片的应用及检测。

[0042] 本发明所述的用于急症腹痛早期筛查的蛋白芯片的应用,主要采用抗原-抗体-荧光标记的二抗检测人血液中的急症腹痛生物标记物抗原,方法是把人血清加于芯片表面,样本中的抗体分别与固定在芯片上的相应的抗原结合,甩干后加入二抗反应,洗去未结合的二抗,在荧光显微镜下检测,收集信号。样本点的荧光强度与血清中抗体的浓度成正比。

[0043] 在上述用于检测急症腹痛生物标记物抗原的蛋白芯片的应用中,其抗原抗体反应及检测的具体使用方法如下:

[0044] 1、在芯片的反应区域,加入经 1:500 稀释的人血清样品;每孔加 50 微升,置于 22 $^{\circ}\text{C}$ 反应室,振荡反应 1 小时,并且用 1 倍稀释的缓冲液洗涤 5 次;

[0045] 2、甩出液体,每孔加入荧光标记的二抗 50 微升,在室温下,置于 22℃恒温反应仪中,在振荡器上以 160r/min 转速孵育蛋白 1 小时。并且用 1 倍稀释的缓冲液洗涤 5 次;

[0046] 3、用荧光显微镜(德国 SRGSD 荧光显微镜,型号 SRGSD)进行检测,同时对照急症腹痛相关疾病排查表,对检测结果进行分析判断。

[0047] 本发明的蛋白芯片能够实现多个样本的同时检测,检测所用的样本是血清或全血,且所需样本量少,检测方便易行、成本低,检测的灵敏度和准确性较高,实现急症腹痛疾病的早期筛查。

[0048] 检测结果:

[0049] 对急诊科随机抽取经体格检查,影像学检查及组织病理学检查确诊为急性胰腺炎、急性阑尾炎、急性腹膜炎、消化性急性溃疡穿孔患者和正常人各 30 例,抽取血样,并做好标记,不让试验操作者知道。然后将各组血样打乱由操作人进行蛋白质芯片盲法检测,在检测、分析数据及诊断时不知道该血样属于哪类人群。将检测出的 TPS II、hs-CRP、SSA、PCT 及 resistin 含量与之前得出的急性胰腺炎、急性阑尾炎、急性腹膜炎,消化性急性溃疡穿孔患者病变前和正常人各类人群 TPS II、hs-CRP、SSA、PCT 及 resistin 的含量进行对比,诊断标准为急诊患者血液中 TPS II、hs-CRP、SSA、PCT 及 resistin 的含量与正常人体血液中 TPS II、hs-CRP、SSA、PCT 及 resistin 的含量正常值比较无统计学差异者则认定为正常人,同时根据相应指标在正常人和患者血液中含量的不同,结合制定的诊断标准,实现急症腹痛疾病的筛查。所得的诊断结果如下表 1~3 所示。

[0050] 表 1 急性胰腺炎组与正常人组(对照组)血清胰蛋白酶原-2 含量的检测值 (ng/ml)

[0051]

分组	样本数 (n)	中位数 (M)	最大值-最小 (Min-Max)
对照组	30	0.90	0.30 ~ 2.10
急性胰腺炎组	30	83.7	30.00 ~ 300.00

[0052] 通过下表 1 可以看出,在正常人血清中 TPS II 的含量在 0.30 ~ 2.10ng/ml 之间,以 0.9ng/ml 居多,在急性胰腺炎患者血清中 TPS II 的含量在 30.00 ~ 300.00 之间变动,以 83.7ng/ml 居多,由此可见,急性胰腺炎患者血清中 TPS II 的含量为正常人血清中 TPS II 含量的 90-150 倍,由此说明,本检测芯片对急性胰腺炎进行筛查的结果是可信的。

[0053] 表 2 急性阑尾炎组与正常人组血清淀粉样蛋白 A 含量的检测值 (ng/ml)

[0054]

分组	样本数 (n)	中位数 (M)	最大值-最小 (Min-Max)
对照组	30	0.02	0.01-0.3
急性阑尾炎组	30	50.00	1.00-200.00

[0055] 通过下表 2 可以看出,在正常人血清中 SSA 的含量在 0.01-0.3ng/ml 之间,以 0.02ng/ml 居多,在急性阑尾炎患者血清中 SSA 的含量在 1.00-200.00ng/ml 之间变动,以 50.00ng/ml 居多,由此可见,急性阑尾炎患者血清中 SSA 的含量为正常人血清中 SSA 含量的 100-600 倍,由此说明,本检测芯片对急性阑尾炎进行筛查的结果是可信的。

[0056] 表 3 急性腹膜炎组与正常人组血清降钙素原含量的检测值 (ng/ml)

[0057]

分组	样本数 (n)	中位数 (M)	最大值-最小 (Min-Max)
对照组	30	0.1	0.01-0.5
急性腹膜炎组	30	135.00	0.10-250.00

[0058] 通过下表 3 可以看出,在正常人血清中 PCT 的含量在 0.01-0.5ng/ml 之间,以 0.1ng/ml 居多,在急性腹膜炎患者血清中 PCT 的含量在 0.10-250.00ng/ml 之间变动,以 135.00ng/ml 居多,由此可见,急性阑尾炎患者血清中 SSA 的含量为正常人血清中 SSA 含量的 100-150 倍,由此说明,本检测芯片对急性腹膜炎进行筛查的结果是可信的。

[0059] 表 4 急性腹膜炎患者血清 PCT、CRP 单项的敏感性与特异性分析 [% (n/n)]

[0060]

检测项目	敏感性	特异性
PCT	93.3(28/30)	86.7(26/30)
hs-CRP	90.0(27/30)	66.7(20/30)

[0061] 由表 4 可以看出,在确诊为急性腹膜炎的 30 例患者中,仅有 28 例急性腹膜炎患者被检测出血清中 PCT 显著升高(与正常人血清中 PCT 含量相比),该指标检测的敏感性为 93.3%,通过单独检测 PCT 指标,能够对其中的 26 例患者进行确证,诊断的特异性为 86.7%;通过 hs-CRP 单指标检测,仅有 27 例急性腹膜炎患者被检测出血清中 hs-CRP 显著升高(与正常人血清中 hs-CRP 含量相比),该指标检测的敏感性为 90.0%,通过单独检测 hs-CRP 指标,能够对其中的 20 例患者进行确证,诊断的特异性为 66.7%;

[0062] 表 5 不同临床活动程度及治疗前后消化性溃疡急性穿孔患者血清抵抗素含量

[0063]

组别	患者数 (个)	抵抗素 (ng/ml)
正常组	30	3.45±1.12
轻度组	30	16.19±2.89
中度组	30	20.45±2.67
重度组	30	25.31±2.28
治疗后	30	4.56±2.14
T 值	6.16	
P 值	p<0.05	

[0064] 由表 5 可以看出,在患病程度不同的消化性溃疡急性穿孔患者体内抵抗素的含量是不同的,在正常人血清中抵抗素的含量为 3.45±1.12ng/ml,轻度患者血清中抵抗素的含量为 16.19±2.89ng/ml,中度患者血清中抵抗素的含量为 20.45±2.67ng/ml,重度

患者血清中抵抗素的含量为 $25.31 \pm 2.28 \text{ng/ml}$, 治疗后, 以上患者血清中抵抗素的含量在 $4.56 \pm 2.14 \text{ng/ml}$ 之间, 且以上各组患者血清中抵抗素的检测值之间存在显著差异 ($p < 0.05$) (运用 SPSS 软件进行试验数据的处理), 由此说明通过检测人血清中抵抗素的含量即可对消化性急性溃疡穿孔患者进行筛查, 并且也能实现对该类患者的病情的轻重的判断。

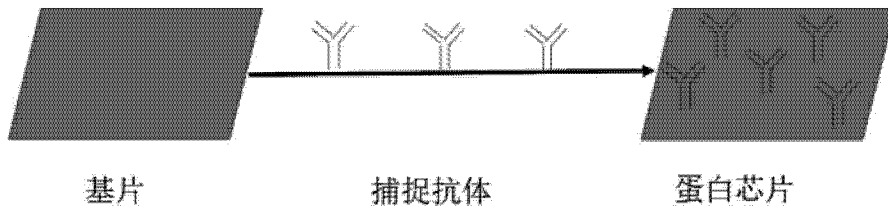


图 1

专利名称(译)	一种急症腹痛早期筛查的蛋白芯片及其制备方法和应用		
公开(公告)号	CN104808002A	公开(公告)日	2015-07-29
申请号	CN201510184810.1	申请日	2015-04-17
[标]申请(专利权)人(译)	南京格耀生物科技有限公司		
申请(专利权)人(译)	南京格耀生物科技有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	南京格耀生物科技有限公司		
[标]发明人	杨子学 董梅 滕娇		
发明人	杨子学 董梅 滕娇		
IPC分类号	G01N33/68 G01N33/543 G01N33/531		
CPC分类号	G01N33/531 G01N33/54306 G01N33/577 G01N33/68 G01N2333/4737 G01N2800/06 G01N2800/067		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明提出了一种用于急症腹痛早期筛查的蛋白质芯片，包括基片和阵列式分布于所述基片上的蛋白检测指标涂层和对照检测指标涂层，其中，所述蛋白检测指标包括TPSII抗体、hs-CRP抗体、SSA抗体、PCT抗体及抵抗素抗体，所述对照检测指标包括样品对照标志物、阳性对照标志物、阴性对照标志物和试剂对照标志物，使用本发明不仅具有灵敏度高、特异性强、结果稳定、重复性好等优点，而且操作简便、一次即可，既方便了医务工作者，提高了劳动效率，节省国家财力，又使患者在省钱的同时更早诊更早治，提高治愈率。同时，把相关指标高度集成，能提高判断的准确性，特别利于早期诊断。

