



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110988334 A

(43)申请公布日 2020.04.10

(21)申请号 201911232536.5

(22)申请日 2019.12.05

(71)申请人 郑州安图生物工程股份有限公司
地址 450000 河南省郑州市经济技术开发
区经北一路87号

(72)发明人 朱宇皇 韩晶 王瑞 李忠信
渠海 刘功成 项立红 陈小玲
付光宇

(74)专利代理机构 北京集佳知识产权代理有限
公司 11227

代理人 刘伟

(51)Int.Cl.

G01N 33/543(2006.01)

G01N 33/535(2006.01)

权利要求书1页 说明书7页 附图1页

(54)发明名称

一种全血前处理试剂及其应用

(57)摘要

本申请属于临床检测技术领域,公开了一种全血前处理试剂及其应用,尤其是涉及在环孢素A和他克莫司的血药浓度免疫检测中的应用。本发明所述全血前处理剂包括有机溶剂、二价金属盐、表面活性剂和生理盐水,所述有机溶剂为甲醇和乙二醇。相对于现有技术,本发明至少具有如下有益效果之一:1)本发明全血前处理剂在应用有机溶剂的情况下,有效降低血红蛋白对HRP检测系统带来的干扰,保证检测结果的准确性;2)在全血前处理剂中首次应用溶血效果较好的表面活性剂,确保单支样本处理全过程能在10分钟以内完成;3)与现有的全血预处理剂相比,处理后的样本在与LC/MS的一致性不变的前提下,重复性有相应的提升。

1. 一种全血前处理剂,包括有机溶剂、二价金属盐、表面活性剂和生理盐水,所述有机溶剂为甲醇和乙二醇。

2. 根据权利要求1所述的全血前处理剂,所述二价金属盐为硫酸锌,所述有机溶剂为Zonyl FSN 100。

3. 根据权利要求1或2所述的全血前处理剂,由如下成分组成:55-90v/v%的甲醇、1-10v/v%的乙二醇、3-10mol/L的硫酸锌、0.01-1v/v%的Zonyl FSN 100,余量为0.9%的NaCl溶液。

4. 根据权利要求3所述的全血前处理剂,由如下成分组成:85v/v%的甲醇、5v/v%的乙二醇、5mol/L的硫酸锌、0.05v/v%的Zonyl FSN 100,余量为0.9%的NaCl溶液。

5. 一种全血前处理方法,将权利要求1-4任一项所述的全血前处理剂与全血进行混合,放置后离心,收集上清。

6. 根据权利要求5所述的全血前处理方法,所述全血前处理剂与全血的体积比为1:1~3:1;所述放置时间<1min;所述离心为14000rpm,离心5-8min。

7. 权利要求1-4任一项所述的全血前处理剂在制备免疫抑制剂类药物的血药浓度免疫检测产品中的应用。

8. 根据权利要求7所述应用,所述免疫抑制剂类药物为环孢素A或他克莫司。

9. 一种应用于免疫抑制剂类药物的血药浓度免疫检测试剂盒,包括权利要求1-4任一项所述的全血前处理剂。

10. 根据权利要求9所述的试剂盒,还包括磁微球工作液、HRP标记物工作液、样本稀释液、校准品、底物液、浓缩提取液中至少一种。

一种全血前处理试剂及其应用

技术领域

[0001] 本发明属于临床检测技术领域,具体涉及一种全血前处理试剂及其应用,尤其是涉及在环孢素A和他克莫司的血药浓度免疫检测中的应用。

背景技术

[0002] 血药浓度监测是以药代动力学原理为指导,分析测定药物在血液中的浓度,用以评价疗效或确定给药方案,使给药方案个体化,以提高药物治疗水平,达到临床安全、有效、合理的用药。血药浓度监测通常用于治疗窗窄、毒性强、服药周期长、服药后个体差异大的药物。

[0003] 环孢素A(CsA)是1970年从孢子木霉菌中分离得到的不溶于水的环状十一肽,1976年瑞士山德士药厂首次发现并报告它具有免疫抑制作用。二十世纪70年代末期环孢霉素首次用于肾移植病人的治疗,这是移植药物研究的一项重要进步,明显增加了心、肾、肝、胰腺、肺或骨髓移植病人的生存率。1983年环孢素A被FDA批准用于器官移植患者术后免疫治疗。环孢素A可通过静脉或口服给药,它具有高度的亲脂性,胃肠道吸收不完全。环孢素A具有多样性和不可预知性,约50%存在于红细胞内,50%存在于血浆,血浆内约90%的环孢霉素与蛋白相结合。CsA血药浓度受药物相互作用、胃肠功能、红细胞含量、性别、年龄、食物及术后时间能因素的影响。CsA血药浓度过高容易引起肝肾及中枢神经系统毒性,其血药浓度过低则易引起排斥反应后诱发自身免疫性疾病。因此临床需定期检测CsA血药浓度,以提高疗效、减少不良反应。

[0004] 他克莫司是1984年由筑波链霉菌发酵纯化分离出的,是23元大环内酯类免疫抑制剂,高度亲脂性药物。他克莫司主要用于肝或肾移植术后的移植物排斥反应,也有文献报道其用于肾病综合征、剥脱性唇炎、红斑狼疮等疾病。他克莫司在体内与环孢素A类似,与结合蛋白有较强的亲和力,且存在于红细胞内。两者均可通过抑制钙调蛋白依赖的蛋白磷酸酶,抑制活化T细胞核因子(NF-AT)活性,从而降低IL-2的转录水平,抑制T细胞活化而发挥免疫抑制作用。药物本身和其代谢产物都具有一定的毒性,所以进行血药浓度检测是其使用的一个必备前提。

[0005] 环孢素A和他克莫司是临床上常用的一类免疫抑制剂,由于该药物在患者摄入体内后有一部分药物会进入到血液的红细胞内,并且该类药物会在血浆和红细胞内互相转换,而且容易受外部环境影响,所以常用的免疫检测方法均会使用全血样本进行检测。全血样本为非均质样本,在实际工作中,一般需要对全血样本进行前处理。全血前处理常用的方法有有机溶剂法和酶法。

[0006] 有机溶剂法是提取药物过程中常用的操作方法,可以有效提取全血中的环孢素A和他克莫司。最常使用的有机溶剂包括甲醇、二甲基亚砜、乙腈等,这些溶剂可以使蛋白变性并且释放出药物。有机溶剂法操作简单,但只适用于样品中浓度较高的药物测定;且处理后,样品中仍然会存在很多干扰物质,对结果产生干扰;残余的杂质会堵塞色谱柱,污染仪器。而酶法反应温和,体系中无挥发性及难闻气味;无需离心,不需要增添设备,可自动化操

作。但酶法的水解酶的蛋白水解作用可能对免疫体系存在影响。而且反应时间较长,一般需要进行高温蛋白变性过程,以减弱蛋白酶对后续免疫检测体系的影响。因此需要对全血前处理试剂进行进一步的优化。

发明内容

[0007] 基于此,本发明的目的在于针对现有技术中的全血前处理试剂处理时间长,操作繁琐,处理不彻底的问题,提供一种全血前处理试剂及其应用,以快速处理全血样品,达到快速、准确的进行血药浓度检测目的。

[0008] 为实现上述目的,本发明采取的技术方案为:

[0009] 一种全血前处理剂,包括有机溶剂、二价金属盐、表面活性剂和生理盐水,所述有机溶剂为甲醇和乙二醇。

[0010] 本发明中,所述的全血前处理剂中所述二价金属盐为硫酸锌。

[0011] 本发明中,所述的全血前处理剂中所述有机溶剂为Zonyl FSN 100。

[0012] 在一些实施方案中,所述的全血前处理剂由如下成分组成:55-90v/v%的甲醇、1-10v/v%的乙二醇、3-10mol/L的硫酸锌、0.01-1v/v%的Zonyl FSN 100,余量为0.9%的NaCl溶液。

[0013] 进一步的,在一些具体实施例中,所述的全血前处理剂由如下成分组成:85v/v%的甲醇、5v/v%的乙二醇、5mol/L的硫酸锌、0.05v/v%的Zonyl FSN 100,余量为0.9%的NaCl溶液。

[0014] 本发明还提供了一种全血前处理方法,将上述的全血前处理剂与全血进行混合,放置后离心,收集上清。

[0015] 在本发明中,所述的全血前处理方法中所述全血前处理剂与全血的体积比为1:1~3:1;所述放置时间<1min;所述离心为14000rpm,离心5-8min。

[0016] 在本发明中,所述的全血前处理方法处理后的样本保存时间在2小时以内。

[0017] 本发明还提供了上述的全血前处理剂在制备免疫抑制剂类药物的血药浓度免疫检测产品中的应用。

[0018] 在本发明中,所述免疫抑制剂类药物为环孢素A或他克莫司。

[0019] 本发明还提供了一种应用于免疫抑制剂类药物的血药浓度免疫检测试剂盒,包括上述的全血前处理剂。

[0020] 在本发明中,所述的试剂盒还包括磁微球工作液、HRP标记物工作液、样本稀释液、校准品、底物液、浓缩提取液中至少一种。

[0021] 所述磁微球工作液是磁微球表面包被有他克莫司或环孢素A鼠单克隆抗体,储存于50mmol/L含有0.2%~5%BSA稳定剂的PBS缓冲液中。

[0022] 所述HRP标记物工作液是用HRP标记的他克莫司或环孢素A抗原衍生物的偶联物以0.05~5μg/mL的浓度储存于50mmol/L含有0.2%~5%BSA稳定剂的PBS缓冲液中;

[0023] 所述样本稀释液是包含有EDTA-2K、置换剂(靶标的类似物)和0.20.2%~5%BSA稳定剂的PBS缓冲液;

[0024] 所述标准品是包含有他克莫司或环孢素A抗原的人血清;

[0025] 所述底物液是1mg/ml鲁米诺和1mg/ml双氧水的混合物;

- [0026] 所述洗涤工作液是包含有0.5-1%Tween20的pH7.5、2mol/L的磷酸盐缓冲液。
- [0027] 在本发明中,可以采用所述试剂盒对他克莫司或环孢素A等免疫抑制剂类药物的血药浓度进行免疫检测。具体操作步骤包括:
- [0028] 1) 吸取10 μ l经上述全血前处理剂处理后的他克莫司或环孢素A校准品、待测样本,然后加入20 μ l磁微粒工作液和100 μ l样本稀释液,振荡孵育15min;
- [0029] 2) 孵育结束后,用洗涤工作液洗涤6次;
- [0030] 3) 然后加入100 μ l HRP标记物工作液,振荡孵育15min;
- [0031] 4) 孵育结束后,用洗涤工作液洗涤6次;
- [0032] 5) 向每个反应位中加入底物液100 μ l;
- [0033] 6) 固相载体于室温下振荡混匀18秒后,使用发光检测仪检测;
- [0034] 选择适当的曲线拟合方式,优选采用四参数拟合方式,以校准品浓度值为x轴,以校准品发光值取log值为y轴建立定标曲线,根据待测样品的发光值回算相应的浓度值。
- [0035] 相对于现有技术,本发明至少具有如下有益效果之一:
- [0036] 1) 本发明全血前处理剂在应用有机溶剂的情况下,有效降低血红蛋白对HRP检测系统带来的干扰,保证检测结果的准确性;
- [0037] 2) 在全血前处理剂中首次应用溶血效果较好的表面活性剂,确保单支样本处理全过程能在10分钟以内完成,
- [0038] 3) 与现有的全血预处理剂相比,处理后的样本在与LC/MS的一致性不变的前提下,重复性有相应的提升。

附图说明

- [0039] 为了更清楚地说明本发明实施例或现有技术中的技术方案,下面将对实施例或现有技术描述中所需要使用的附图作简单地介绍。
- [0040] 图1示实施例4采用本发明所述全血前处理剂处理全血样品后他克莫司项目与LC/MS的准确性;
- [0041] 图2示实施例4采用现有的全血预处理剂处理全血样品后他克莫司项目与LC/MS的准确性。

具体实施方式

- [0042] 本发明公开了一种全血前处理试剂及其应用。本领域技术人员可以借鉴本文内容,适当改进工艺参数实现。特别需要指出的是,所有类似的替换和改动对本领域技术人员来说是显而易见的,它们都被视为包括在本发明。本发明的方法及产品已经通过较佳实施例进行了描述,相关人员明显能在不脱离本发明内容、精神和范围内对本文所述的方法进行改动或适当变更与组合,来实现和应用本发明技术。
- [0043] HRP检测系统是临床上经常使用到的一种免疫分析系统,属于酶促化学发光的一种,HRP酶标记抗原,以鲁米诺为底物进行发光检测。HRP检测系统具有无污染、可自动化和检测灵敏度高优势。但是该系统对血液中的血红蛋白的抗干扰能力比较差,主要由于血红蛋白本身具有过氧化物酶的活性,在检测样本中含量较高的情况下,会对HRP系统带来较强的干扰。

[0044] 有机溶剂法是提取药物过程中常用的操作方法,可以有效提取全血中的环孢素A和他克莫司。最常使用的有机溶剂包括甲醇、二甲基亚砷、乙腈等,这些溶剂可以使蛋白变性并且释放出药物。HRP酶作为免疫分析检测中一种常用的酶,也是一类蛋白质,所有在含有有机溶剂的处理液中均会对免疫反应中的HRP酶带来影响。所以在全血处理剂的使用过程中对其类别的选择有较大的影响。本发明通过比较几种常用的有机溶剂甲醇、二甲基亚砷、乙腈,以筛选出应用于全血前处理试剂中最为合适的有机溶剂。结果显示,含有甲醇的全血前处理剂对HRP检测系统的影响最弱,可以保证处理后的全血中的环孢素A检测有明显的梯度,有利于对体内待测物的分析。

[0045] 表面活性剂是一类加入少量能使其溶液体系的界面状态发生明显变化的物质,具有固定的亲水亲油基团,在溶液的表面能定向排列。同时表面活性剂引起的细胞稳态紊乱可能引起细胞从形状改变到细胞裂解的变化,主要机制是渗透裂解和溶解裂解,另一种以膜孔形成为基础的特殊机制,主要起作用的是皂苷类化合物。迄今溶血性研究主要集中在离子型和非离子型表面活性剂,对于两性表面活性剂和其他类型的表面活性剂研究较少。阳离子型表面活性剂毒性较大,有非常强的杀菌能力和溶血性。非离子表面活性剂和阴离子表面活性剂毒性相对较小,性能较温和,适用于试剂盒的使用。表面活性剂对于全血中红细胞的裂解起到非常大的作用,合适的表面活性剂的选择对整个检测系统的影响至关重要。

[0046] 根据以上表面活性剂的作用,本发明比较在全血前处理剂中使用不同种类的表面活性剂,筛选出应用于全血前处理试剂中最为合适的表面活性剂,从而更有效的加速全血中红细胞膜的破裂,更有效的释放出红细胞中的各种蛋白和药物。本发明研究了多种非离子表面活性剂和阴离子表面活性剂,通过对全血的混合和离心,比对各种全血预处理剂处理后的样本上清,通过对不同时间检测上清血红蛋白的吸光度来看,表面活性剂Zonyl FSN 100在提取效率上优于现有的全血预处理剂,可以更加有效的清除处理液上清中的血红蛋白,从而降低后续其对检测系统带来的后续干扰。

[0047] 免疫检测系统针对小分子药物的检测常用的方法有三种,分别是一步法、延时一步法以及两步法。三种方法均为全自动操作,只是仪器软件选项的选择不同。一步法是同时加入样本、磁珠、酶标抗原反应,然后洗涤、检测。延时一步法是加入样本和磁珠反应15分钟后,再加入酶标抗原再反应15分钟,然后洗涤、检测。两步法是加入样本和磁珠反应15分钟,洗涤后,再加入酶标抗原再反应15分钟,然后洗涤、检测。延时一步法和一步法的模式会增大检测系统对标志物的检测梯度,两步法的检测梯度最小。

[0048] 由于全血前处理剂在处理全血样本后,需不可避免的带入到检测系统中,本发明使用两步法的检测方法,在第一步样本与磁珠反应后利用洗涤工作液进行洗涤,减少处理液中的物质对后续HRP酶标抗原的竞争结合效果,降低对反应体系带来的干扰。

[0049] 本发明在确定了全血前处理剂的配方和检测过程的检测步骤后,在HRP的检测系统中对与检测金标准LC/MS方法进行了他克莫司检测准确度的比对,同时,在环孢素A的项目上比对了精密性。结果显示,与现有商业化全血预处理剂-样本萃取液比较,在HRP检测系统中,采用本发明所述全血前处理剂,在两步法的检测情况下,有效降低有机试剂和血红蛋白对该系统的干扰,对检测结果的准确性和重复性有一定的提高,提升了检测他克莫司的准确性及环孢素A项目的精密性。

[0050] 为了进一步理解本发明,下面将结合本发明实施例,对本发明实施例中的技术方案进行清楚、完整地描述,显然,所描述的实施例仅仅是本发明一部分实施例,而不是全部的实施例。基于本发明中的实施例,本领域普通技术人员在没有做出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施例,都属于本发明保护的范围。

[0051] 如无特殊说明,本发明实施例中所涉及的试剂均为市售产品,均可以通过商业渠道购买获得。

[0052] 实施例1、不同有机溶剂的影响

[0053] 1、试验材料

[0054] 配方:5v/v%乙二醇,5mol/L硫酸锌,不同体积有机溶剂,0.9%NaCl溶液补足至100v/v%。

[0055] 有机溶剂:甲醇、二甲基亚砷、乙腈。

[0056] 2、试验方法及结果

[0057] 取300 μ l全血至离心管中,分别加入600 μ l以上全血前处理剂,混匀,放置30s后,14000转离心5分钟,吸取上清,在安图A2000PLUS化学发光仪上进行环孢素A项目的检测。结果见表1。

[0058] 表1不同有机溶剂对检测结果的影响

环孢素 A (ng/ml)	相对发光强度 (RLUs)								
	甲醇			二甲基亚砷			乙腈		
	65%	75%	85%	65%	75%	85%	65%	75%	85%
0	22748032	18864931	14938473	3398471	2773623	2874211	28371	93827	29384
43	19746932	14987421	9762321	2874621	2439281	2574391	12341	38101	84762
1439	8374682	6098723	2344509	2064921	2203841	2201381	87412	37610	39481

[0060] 结果显示,选用甲醇的处理剂对HRP检测系统的影响最弱,可以保证处理后的全血中的环孢素A检测有明显的梯度,有利于对体内待测物的分析。虽然在公开号为CN 101946179B的中国专利中提到二甲基亚砷比甲醇有更高的水蒸气压,并且在直接化学发光的系统中作用最优,但是在HRP平台上,甲醇比二甲基亚砷表现出了更加优异的抗干扰能力。

[0061] 实施例2、不同表面活性剂的影响

[0062] 1、试验材料:

[0063] 对照:现有的全血预处理剂-样本萃取液(购自雅培贸易(上海)有限公司,货号1L77.55)。

[0064] 配方:85v/v%甲醇、5v/v%乙二醇、5mol/L硫酸锌,0.05v/v%不同表面活性剂,0.9%NaCl溶液补足至100v/v%。

[0065] 表面活性剂:

[0066] 表面活性剂1:NINATER411

[0067] 表面活性剂2:BRIJ 35

[0068] 表面活性剂3:IGEPALRCA210

[0069] 表面活性剂4:TRITONRX-100

[0070] 表面活性剂5:RHODASURFRON-870

[0071] 表面活性剂6:ZonylRFSN100

[0072] 表面活性剂7:CHEMALRLA-9

[0073] 表面活性剂8:SURFACTANT 10G

[0074] 2、试验方法:

[0075] 取300 μ l全血至离心管中,分别加入600 μ l以上全血前处理剂,混匀,放置15-90s后14000转离心5分钟,吸取上清,在分光光度计上检测OD值,结果见表2。OD值越低,证明血红蛋白沉淀效果越好。

[0076] 表2不同表面活性剂对检测结果的影响

处理剂类型		处理后上清 OD 值		
		15s	60s	90s
空白		0.001	0.002	0.002
对照试剂		0.315	0.145	0.021
[0077] 含不同 表面活性剂 的处理剂	表面活性剂 1	0.324	0.214	0.123
	表面活性剂 2	0.123	0.098	0.022
	表面活性剂 3	0.412	0.298	0.165
	表面活性剂 4	0.132	0.034	0.044
	表面活性剂 5	0.421	0.234	0.102
	表面活性剂 6	0.042	0.014	0.004
	表面活性剂 7	0.341	0.421	0.171
	表面活性剂 8	0.421	0.324	0.311

[0078] 结果显示,表面活性剂Zonyl FSN 100在提取效率上优于现有的全血预处理剂,可以更加有效的清除处理液上清中的血红蛋白,从而降低后续其对检测系统带来的后续干扰。

[0079] 进一步对表面活性剂Zonyl FSN 100的添加量进行比较,放置30s后14000转离心5分钟,吸取上清,在分光光度计上检测OD值,结果见表3。

[0080] 表3不同添加量的Zonyl FSN 100对检测结果的影响

处理剂类型		30s 处理后上清 OD 值		
		样本 1	样本 2	样本 3
空白		0.002	0.002	0.001
对照试剂		0.105	0.121	0.042
[0082] 含不同量 表面活性剂 6 的处理剂	0.01v/v%	0.101	0.096	0.089
	0.05 v/v %	0.023	0.033	0.012
	0.1 v/v %	0.201	0.101	0.084

[0083] 结果显示,含有不同用量的表面活性剂6的全血预处理剂提取效率不同,0.05v/v%的效果优于0.01v/v%和0.1v/v%。

[0084] 实施例3、比较不同全血前处理试剂、不同检测方法对环孢素A检测的影响1、试验材料:

[0085] 现有的全血预处理剂-样本萃取液。

[0086] 本发明所述全血前处理剂配方:85v/v%甲醇、5v/v%乙二醇、5mol/L硫酸锌,0.05v/v%ZonylRFSN100,0.9%NaCl溶液补足至100v/v%。

[0087] 2、试验方法：

[0088] 取300 μ l全血至离心管中，分别加入600 μ l以上全血前处理剂，混匀，放置30s后14000转离心5分钟，吸取上清，在安图A2000PLUS化学发光仪上分别采用一步法、延时一步法以及两步法进行环孢素A项目的检测，结果见表4。

[0089] 表4不同检测方法对环孢素A检测的影响

环孢素 A (ng/ml)	本发明所述全血前处理剂			现有的全血预处理剂		
	两步法	一步法	延时一步法	两步法	一步法	延时一步法
[0090] 0	13984721	134543	102932	15938732	329877	180938
43	8747023	134321	125574	12938741	302873	180938
1439	2203921	167655	120984	8654723	312738	190837

[0091] 结果显示，采用本发明所述全血前处理剂处理全血样本，同时应用两步法进行检测，降低了血红蛋白对HRP系统的干扰，表现出更好的反应性和梯度。

[0092] 实施例4、不同全血前处理试剂对检测准确度和精密性的影响

[0093] 在HRP的检测系统中对与检测金标准LC/MS方法进行他克莫司检测准确度的比对。同时，在环孢素A的项目上比对精密性。

[0094] 1、试验材料：

[0095] 试验材料：

[0096] 现有的全血预处理剂-样本萃取液。

[0097] 本发明所述全血前处理剂配方：85v/v%甲醇、5v/v%乙二醇、5mol/L硫酸锌，0.05v/v%ZonylRFSN100，0.9%NaCl溶液补足至100v/v%。

[0098] 2、试验方法：

[0099] 取300 μ l全血至离心管中，分别加入600 μ l以上全血前处理剂，混匀，放置30s后14000转离心5分钟，吸取上清，在安图A2000PLUS化学发光仪上采用两步法进行他克莫司与LC/MS准确性和环孢素A项目精密性的检测。结果见图1-2及表5。

[0100] 表5环孢素A项目精密性

[0101] 处理剂类型	57ng/ml	439ng/ml	1273ng/ml
现有的全血预处理剂	7.4%	6.9%	8.3%
本发明所述全血前处理剂	6.3%	4.5%	5.7%

[0102] 结果显示，与现有的全血预处理剂比较，采用本发明所述全血前处理剂，在两步法的检测情况下，提升了检测他克莫司的准确性及环孢素A项目的精密性。

他克莫司 (ng/ml)

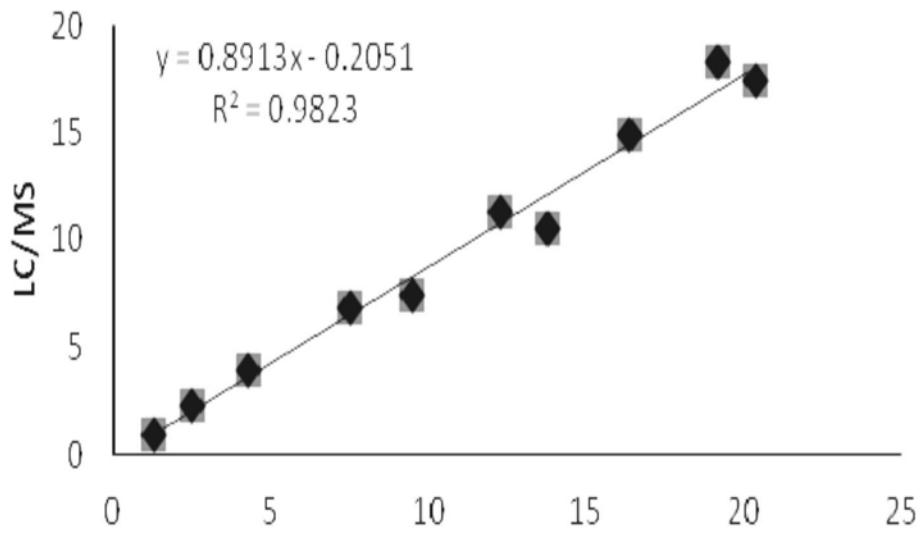


图1

他克莫司 (ng/ml)

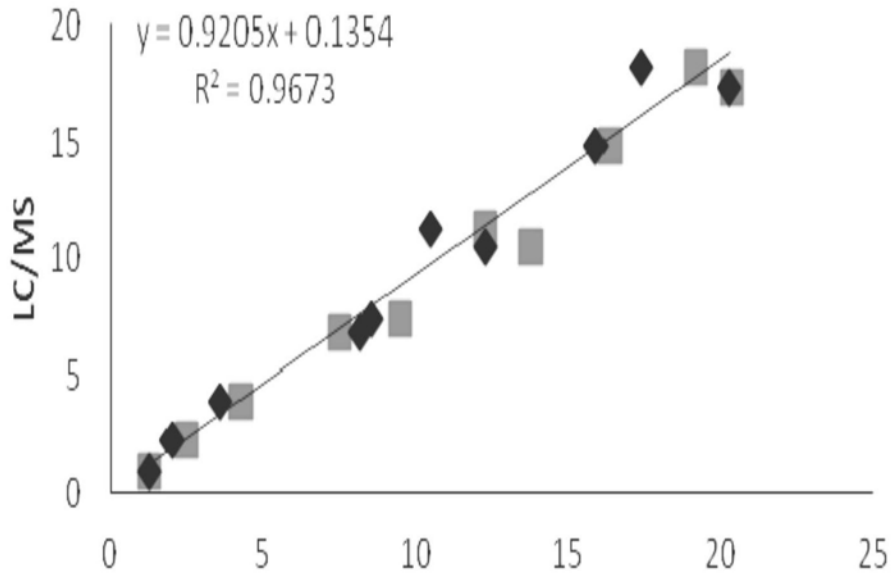


图2

专利名称(译)	一种全血前处理试剂及其应用		
公开(公告)号	CN110988334A	公开(公告)日	2020-04-10
申请号	CN201911232536.5	申请日	2019-12-05
[标]申请(专利权)人(译)	郑州安图生物工程股份有限公司		
申请(专利权)人(译)	郑州安图生物工程股份有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	郑州安图生物工程股份有限公司		
[标]发明人	朱宇皇 韩晶 王瑞 李忠信 渠海 刘功成 项立红 陈小玲 付光宇		
发明人	朱宇皇 韩晶 王瑞 李忠信 渠海 刘功成 项立红 陈小玲 付光宇		
IPC分类号	G01N33/543 G01N33/535		
CPC分类号	G01N33/535 G01N33/54326		
代理人(译)	刘伟		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本申请属于临床检测技术领域，公开了一种全血前处理试剂及其应用，尤其是涉及在环孢素A和他克莫司的血药浓度免疫检测中的应用。本发明所述全血前处理剂包括有机溶剂、二价金属盐、表面活性剂和生理盐水，所述有机溶剂为甲醇和乙二醇。相对于现有技术，本发明至少具有如下有益效果之一：1)本发明全血前处理剂在应用有机溶剂的情况下，有效降低血红蛋白对HRP检测系统带来的干扰，保证检测结果的准确性；2)在全血前处理剂中首次应用溶血效果较好的表面活性剂，确保单支样本处理全过程能在10分钟以内完成；3)与现有的全血预处理剂相比，处理后的样本在与LC/MS的一致性不变的前提下，重复性有相应的提升。

环孢素 A (ng/ml)	相对发光强度 (RLUs)								
	甲醇			二甲基亚砜			乙腈		
	65%	75%	85%	65%	75%	85%	65%	75%	85%
0	22748032	18864931	14938473	3398471	2773623	2874211	28371	93827	29384
43	19746932	14987421	9762321	2874621	2439281	2574391	12341	38101	84762
1439	8374682	6098723	2344509	2064921	2203841	2201381	87412	37610	39481