



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 103439484 B

(45) 授权公告日 2015. 12. 23

(21) 申请号 201310351031. 7

控血清及室内质控方法建立研究：《检验医学与临床》. 2010, 第 7 卷 (第 3 期),

(22) 申请日 2013. 08. 13

审查员 刘彦宁

(73) 专利权人 武汉血液中心

地址 430030 湖北省武汉市硚口区宝丰一路
8 号

(72) 发明人 余谨 杨茹 付荣 毕昊

(74) 专利代理机构 北京华沛德权律师事务所
11302

代理人 刘杰

(51) Int. Cl.

G01N 33/53(2006. 01)

(56) 对比文件

CN 102053154 A, 2011. 05. 11, 说明书
0002-0014、0021-0049 段, 图 1-4.

CN 101097216 A, 2008. 01. 02, 全文.

CN 1117586 A, 1996. 02. 28, 全文.

US 2004152200 A1, 2004. 08. 05, 全文.

柏居林等. 自制人类免疫缺陷病毒抗体等质

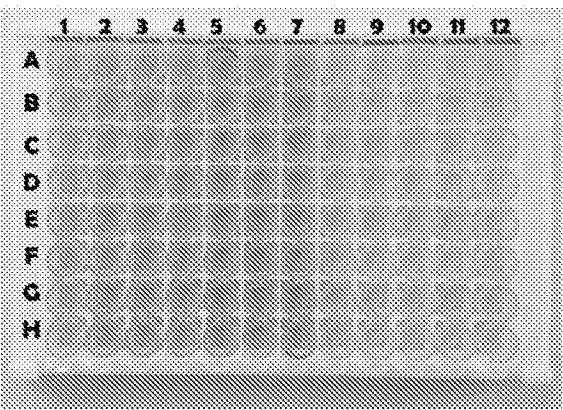
权利要求书1页 说明书5页 附图2页

(54) 发明名称

一种显色质控物及其应用

(57) 摘要

本发明公开了一种显色质控物及其应用, 属于质控物技术领域。所述显色质控物是在普通质控物中加浓度为 0. 001g/ml ~ 1g/ml 的染色剂得到的。该显色质控物可肉眼与检测标本和阴阳性对照品区分, 便于试验时质控物随机分布在检测标本中, 更好的发挥质控物的监测作用, 并避免加错、漏加质控物。更重要的是该显色质控物能很好的保持其原有稳定的生物化学性状, 准确的完成酶联免疫实验。



1. 一种显色质控物,其特征在于,所述显色质控物是在普通质控物中加浓度为 0.001g/ml ~ 1g/ml 的染色剂得到的;所述普通质控物为艾滋病毒质控物、丙肝质控物、梅毒质控物或者乙肝质控物;所述普通质控物为艾滋病毒质控物、梅毒质控物或者乙肝质控物时,加入染色剂的浓度为 0.1g/ml;所述普通质控物为丙肝质控物时,加入染色剂的浓度为 0.2g/ml;所述染色剂为胭脂红、柠檬黄或日落黄。

2. 根据权利要求 1 所述的显色质控物,其特征在于,所述显色质控物中普通质控物的原有生物化学性状不会发生改变。

3. 根据权利要求 1 或 2 任一项所述的显色质控物的应用,其特征在于,所述显色质控物可以用于酶联免疫吸附实验。

4. 根据权利要求 3 所述的显色质控物的应用,其特征在于,所述显色质控物可以保证酶联免疫吸附实验的稳定性。

一种显色质控物及其应用

技术领域

[0001] 本发明属于质控物技术领域,具体涉及一种显色质控物及其应用。

背景技术

[0002] 酶联免疫吸附实验(ELISA)是临床检验中最常用的检测方法,因其灵敏度和特异性较高、自动化、价格低廉等优势,因此在高通量的血液检测中极具优势,是我国目前采供血机构进行血液安全检测的不可替代的方法。丙肝、梅毒、乙肝和艾滋病是卫生部规定的所有采集的血液必须要检测的四项传染病指标,其检测方法为 ELISA。

[0003] 做 ELISA 试验时,必须与检测的血液样本一起做一孔或者多孔室内质控物来监测每次试验结果的有效性。室内质控物的基质来自于人的血清,因此,目前大多数检测机构所使用的质控物其颜色与检测的血清标本一样,都为无色透明或微黄色(无色透明为血清经过处理后的颜色)。在大批量检测血液样本时,采用全自动加样设备将 50 μ l 质控物加于 300 μ l 的酶标板孔内。由于其颜色与检测的血液标本很难分辨,试验中只能固定孔位,检测者才能知道哪一孔做的是质控物,而事实上做质控物的要求是必须随机分布于血液标本中间,与检测标本一起试验才能起到质控物的监测作用。且目前大多数试剂厂家生产的阴性对照、阳性对照与质控物的颜色十分相似,肉眼几乎不能辨别。因此,实验人员也很难区分阴阳性对照物和质控物是否有加错位置,或者混加的现象。质控物的试验结果直接关系到整批实验数据的有效性。实际工作中因质控物颜色不好与阴阳性对照物和检测的血清标本辨别而出现加错、漏加或者量不足的现象时有发生,质控物的结果关系到整批试验结果的有效性,试验结果无效常常会导致试验必须重做,给病人和工作人员带来不必要的麻烦和浪费。丙型肝炎、梅毒螺旋体、乙肝表面抗原和艾滋病毒是卫生部规定的所有采集的血液必须要检测的四项传染病指标,因质控物结果不合要求而导致试验重做,严重时可能会影响到病人及时输血,危及病人的生命。因此,对于质控物的颜色性状的改进变得尤为重要。

发明内容

[0004] 本发明的目的是解决上述问题而提供了一种能保持质控物原有的生物化学性状,并且能用肉眼辨别的显色质控物及其应用。

[0005] 本发明所采用的技术方案是:

[0006] 一种显色质控物,所述显色质控物是在普通质控物中加浓度为 0.001g/ml ~ 1g/ml 的染色剂得到的。

[0007] 进一步地,所述显色质控物中普通质控物的原有生物化学性状不会发生改变。

[0008] 优选地,所述染色剂为化学合成色素或天然色素。

[0009] 更优选地,所述化学合成色素为胭脂红、柠檬黄或日落黄。

[0010] 更优选地,所述天然色素为甜菜红。

[0011] 优选地,所述普通质控物为艾滋病毒质控物、丙肝质控物、梅毒质控物或者乙肝质控物。

[0012] 进一步地,所述普通质控物为艾滋病毒质控物、梅毒质控物或者乙肝质控物时,加入染色剂的浓度为 0.1g/ml。

[0013] 进一步地,所述普通质控物为丙肝质控物时,加入染色剂的浓度为 0.2g/ml。

[0014] 进一步地,所述显色质控物可以保证酶联免疫吸附实验的稳定性。

[0015] 本发明具有以下优点:

[0016] 本发明克服现有的质控物的颜色性状不足,提供一种显色质控物,该显示质控物可以保证普通的质控物不仅能保持其原本的生物化学性状、监测酶联免疫反应的过程,而且能轻易通过肉眼将其与阳性对照物、阴性对照物及检测的血液样本区分开来,并方便于将质控物随机设置在检测的血液样本中,使整个实验进程更加安全可靠,质控物的值更加能准确的反应试验结果。

附图说明

[0017] 图 1 为实施例 1 中显色乙肝质控物应用于酶联免疫吸附实验的显色结果图;

[0018] 图 2 为实施例 2 中显色梅毒质控物应用于酶联免疫吸附实验的显色结果图;

[0019] 图 3 为实施例 3 中显色艾滋病毒质控物应用于酶联免疫吸附实验的显色结果图;

[0020] 图 4 为实施例 4 中显色丙肝质控物应用于酶联免疫吸附实验的显色结果图。

具体实施方式

[0021] 下面结合附图和实施方式对本发明作进一步详细的说明。

[0022] 实施例 1

[0023] 本实施例提供了一种显色乙肝质控物的制备方法,包括如下步骤:

[0024] (1)用分析天平称取 1.0g 染料柠檬黄,以 10ml 去离子水溶解,稀释。离心机 1000 转/分的转速离心 1 分钟,待用。

[0025] (2)取出抗-HBsAg 质控物 1 支(规格:0.5ml/支或 1ml/支),室温平衡 30 分钟。

[0026] (3)吸取 1ul 已溶解的柠檬黄染料加入 0.5ml/支或 1ml/支抗-HBsAg 质控物中,盖上盖子,来回颠倒混匀 1 分钟,可见质控物很快均匀染色。

[0027] (4)质控物的保存:保存于 -20℃ 条件下。

[0028] (5)使用之前放于 4℃ 冰箱内解冻一天后再放于室温下平衡半小时备用。

[0029] 将此显色乙肝病毒质控物应用于 ELISA 实验,其实验步骤如下:

[0030] (1)取平衡好的抗-HBsAg 酶联免疫试剂,第一条酶标孔内加上阴性对照 2 孔(A1、B1)、阳性对照 2 孔(C1、D1)质控物 1 孔(E1),每孔各 100ul,第二条及第三条和第四条微板内(A2-H2、A3-H3、A4-H4)共 24 孔加入未添加染色剂的质控物每孔各 100ul,第五条、六条及七条的(A、B、C、D、E、F、G、H 即 A5-H5、A6-H6、A7-H7)孔共 24 孔内加入显色乙肝质控物,每孔各 100ul。其显色结果参照图 1。

[0031] (2)微板置于 37℃ 孵育箱孵育 1 小时。

[0032] (3)配置好的洗液洗板 5 次,扣干。

[0033] (4)每孔加酶 100ul,继续于 37℃ 孵育箱孵育 1 小时。

[0034] (5)配置好的洗液洗板 5 次,加入底物(A、B 液各 50ul)。

[0035] (6)37℃ 孵育箱孵育 30 分钟。

[0036] (7) 每孔加入终止液 100u1, 微板显色, 用酶标仪检测 OD 值。

[0037] 将原质控物检测到的 OD 值与显色乙肝质控物检测到的 OD 值进行 t 检验比较, $P=0.51 > 0.05$, 两组数据无明显统计学差异, 说明该染色方法处理后的质控物可以很好的保持了质控物的生物化学性状, 可以稳定的应用于酶联免疫实验。为证实改进后的质控物对采供血机构日常工作不产生任何影响, 在采供血机构检测乙肝的微板所预留的空白孔内加入改进后的质控物 100u1, 随微板进入全自动 FAME 后处理仪器中实验一个月, 共做微板数为 211 板, 将改进后的质控物所得数值与原质控物数值比较, ($P=0.65 > 0.05$, 差别不具有统计学意义)。将改进后的质控物与检测标本一起随机加入到微板内任何一孔, 共做微板 30 块, 将改进后质控物所得的值与原质控物 OD 值比较, ($P=0.43 > 0.05$, 差别不具有统计学意义)。

[0038] 实施例 2

[0039] 本实施例提供了一种显色梅毒质控物的制备方法, 包括如下步骤:

[0040] (1) 用分析天平称取 1.0g 染料柠檬黄, 以 10ml 去离子水溶解, 稀释。离心机 1000 转 / 分的转速离心 1 分钟, 待用。

[0041] (2) 取出梅毒质控物 1 支 (规格: 0.5ml / 支或 1ml / 支), 室温平衡 30 分钟。

[0042] (3) 吸取 1u1 已溶解的柠檬黄染料加入 0.5ml / 支或 1ml / 支梅毒质控物中, 盖上盖子, 来回颠倒混匀 1 分钟, 可见质控物很快均匀染色。

[0043] (4) 质控物的保存: 保存于 -20°C 条件下。

[0044] (5) 使用之前放于 4°C 冰箱内解冻一天后再放于室温下平衡半小时备用。

[0045] 将此显色梅毒质控物应用于 ELISA 实验, 其实验步骤如下:

[0046] (1) 取平衡好的梅毒酶联免疫试剂, 第一条酶标孔内加上阴性对照 2 孔 (A1、B1)、阳性对照 2 孔 (C1、D1) 质控物 1 孔 (E1), 每孔各 100u1, 第二条及第三条微板内 (A2-H2, A3-H3) 共 16 孔加入未添加染色剂的质控物每孔各 100u1, 第五条、六条及七条的 (A、B、C、D、E) 孔内加入显色梅毒质控物每孔各 100u1。其显色结果参照图 2。

[0047] (2) 微板置于 37°C 孵育箱孵育 1 小时。

[0048] (3) 配置好的洗液洗板 5 次, 扣干。

[0049] (4) 每孔加酶 100u1, 继续于 37°C 孵育箱孵育 1 小时。

[0050] (5) 配置好的洗液洗板 5 次, 加入底物 (A、B 液各 50u1)。

[0051] (6) 37°C 孵育箱孵育 30 分钟。

[0052] (7) 每孔加入终止液 50u1, 微板显色, 用酶标仪检测 OD 值。

[0053] (8) 将原质控物检测到的 OD 值与显色梅毒质控物检测到的 OD 值进行 t 检验比较, $P=0.88 > 0.05$, 两组数据无明显统计学差异, 说明该染色方法处理后的质控物可以很好的保持了质控物的生物化学性状, 可以稳定的应用于酶联免疫实验。为证实改进后的质控物对采供血机构日常工作不产生任何影响, 在采供血机构检测梅毒的微板所预留的空白孔内加入改进后的质控物 100u1, 随微板进入全自动 FAME 后处理仪器中实验一个月, 共做微板数为 200 板, 将改进后的质控物所得数值与原质控物数值比较, ($P=0.72 > 0.05$, 差别不具有统计学意义)。将改进后的质控物与检测标本一起随机加入到微板内任何一孔, 共做微板 30 块, 将改进后质控物所得的值与原质控物 OD 值比较, ($P=0.55 > 0.05$, 差别不具有统计学意义)。

[0054] 实施例 3

[0055] 本实施例提供了一种显色艾滋病毒质控物的制备方法,包括如下步骤:

[0056] (1)用分析天平称取 1.0g 染料日落黄,以 10ml 去离子水溶解,稀释。离心机 1000 转/分的转速离心 1 分钟,待用。

[0057] (2)取出艾滋病毒质控物 1 支(规格:0.5ml/支或 1ml/支),室温平衡 30 分钟。

[0058] (3)吸取 1ul 已溶解的日落黄染料加入 0.5ml/支或 1ml/支乙肝质控物中,盖上盖子,来回颠倒混匀 1 分钟,可见质控物很快均匀染色。

[0059] (4)质控物的保存:保存于 -20℃ 条件下。

[0060] (5)使用之前放于 4℃ 冰箱内解冻一天后再放于室温下平衡半小时备用。

[0061] 将此显色艾滋病毒质控物应用于 ELISA 实验,其实验步骤如下:

[0062] (1)取平衡好的艾滋病毒酶联免疫试剂,第一条酶标孔内加上阴性对照 2 孔(A1、B1)、阳性对照 2 孔(C1、D1)质控物 1 孔(E1),每孔各 100ul,第二条及第三条微板内(A2-H2, A3-H3)共 24 孔加入未添加染色剂的质控物每孔各 50ul,第五条、六条及七条的(A、B、C、D、E、F、G、H 即 A5-H5、A6-H6、A7-H7)孔共 24 孔内加入显色艾滋病毒质控物每孔各 100ul。其显色结果参照图 3。

[0063] (2)微板置于 37℃ 孵育箱孵育 1 小时。

[0064] (3)配置好的洗液洗板 5 次,扣干。

[0065] (4)每孔加酶 100ul,继续于 37℃ 孵育箱孵育 1 小时。

[0066] (5)配置好的洗液洗板 5 次,加入底物(A、B 液各 50ul)。

[0067] (6)37℃ 孵育箱孵育 30 分钟。

[0068] (7)每孔加入终止液 100ul,微板显色,用酶标仪检测 OD 值。

[0069] (8)将原质控物检测到的 OD 值与显色艾滋病毒质控物测到的 OD 值进行 t 检验比较, $P=0.45 > 0.05$,两组数据无明显统计学差异,说明该染色方法处理后的质控物可以很好的保持了质控物的生物化学性状,可以稳定的应用于酶联免疫实验。为证实改进后的质控物对采供血机构日常工作不产生任何影响,在采供血机构检测艾滋病毒的微板所预留的空白孔内加入改进后的质控物 100ul,随微板进入全自动 FAME 后处理仪器中实验一个月,共做微板数为 163 板,将改进后的质控物所得数值与原质控物数值比较, ($P=0.77 > 0.05$, 差别不具有统计学意义)。将改进后的质控物与检测标本一起随机加入到微板内任何一孔,共做微板 20 块,将改进后质控物所得的值与原质控物 OD 值比较, ($P=0.41 > 0.05$, 差别不具有统计学意义)。

[0070] 实施例 4

[0071] 本实施例提供了一种显色丙肝质控物的制备方法,包括如下步骤:

[0072] (1)用分析天平称取 1.0g 染料胭脂红,以 5ml 去离子水溶解,稀释。离心机 1000 转/分的转速离心 1 分钟,待用。

[0073] (2)取出 HCV 质控物(规格:0.5ml/支或 1ml/支),室温平衡 30 分钟。

[0074] (3)吸取 1ul 已溶解的胭脂红染料加入 1.0ml HCV 质控物中,盖上盖子,来回颠倒混匀 1 分钟,可见质控物很快均匀染色。

[0075] (4)质控物的保存:保存于 -20℃ 条件下。

[0076] (5)使用之前放于 4℃ 冰箱内解冻一天后再放于室温下平衡半小时备用。

[0077] 将此显色丙肝质控物应用于 ELISA 实验,其实验步骤如下:

[0078] (1) 取平衡好的 HCV 酶联免疫试剂,每孔加入 100u1 稀释液,第一条试剂内加上阴性对照 2 孔(A1、B1)、阳性对照 2 孔(C1、D1)质控物 1 孔(E1),每孔各 10u1,第二条及第三条微板内(A2-H2,A3-H3,)共 16 孔加入未添加染色剂的质控物每孔各 10u1,第 7 条、8 条及 9 条的(A、B、C、D、E、F、G、H 即 A7-H7、A8-H8、A9-H9)孔内共 24 孔加入经胭脂红染色的质控物每孔各 10u1。其显色结果参照图 4(A4-H4、A5-H5、A6-H6 孔内为仅加入稀释液)。

[0079] (2) 微板置于 37℃ 孵育箱孵育 1 小时。

[0080] (3) 配置好的洗液洗板 5 次,扣干。

[0081] (4) 每孔加酶 100u1,继续于 37℃ 孵育箱孵育 1 小时。

[0082] (5) 配置好的洗液洗板 5 次,加入底物(A、B 液各 50u1)。

[0083] (6) 37℃ 孵育箱孵育 30 分钟。

[0084] (7) 每孔加入终止液 50u1,微板显色,用酶标仪检测 OD 值。

[0085] (8) 将原质控物检测到的 OD 值与显色丙肝质控物测到的 OD 值进行 t 检验比较, $P=0.196 > 0.05$,两组数据无明显统计学差异,说明该染色方法处理后的质控物可以很好的保持了质控物的生物化学性状,可以稳定的应用于酶联免疫实验。为证实改进后的质控物对采供血机构日常工作不产生任何影响,在采供血机构检测丙肝病毒的微板所预留的空白孔内加入改进后的质控物 10u1,随微板进入全自动 FAME 后处理仪器中实验一个月,共做微板数为 178 板,将改进后的质控物所得数值与原质控物数值比较, $(P=0.177 > 0.05)$,差别不具有统计学意义)。将改进后的质控物与检测标本一起随机加入到微板内任何一孔,共做微板 20 块,将改进后质控物所得的值与原质控物 OD 值比较, $(P=0.135 > 0.05)$,差别不具有统计学意义)。

[0086] 最后所应说明的是,以上实施例仅用以说明本发明的技术方案而非限制,尽管参照较佳实施例对本发明进行了详细说明,本领域的普通技术人员应当理解,可以对本发明的技术方案进行修改或者等同替换,而不脱离本发明技术方案的精神和范围,其均应涵盖在本发明的权利要求范围当中。

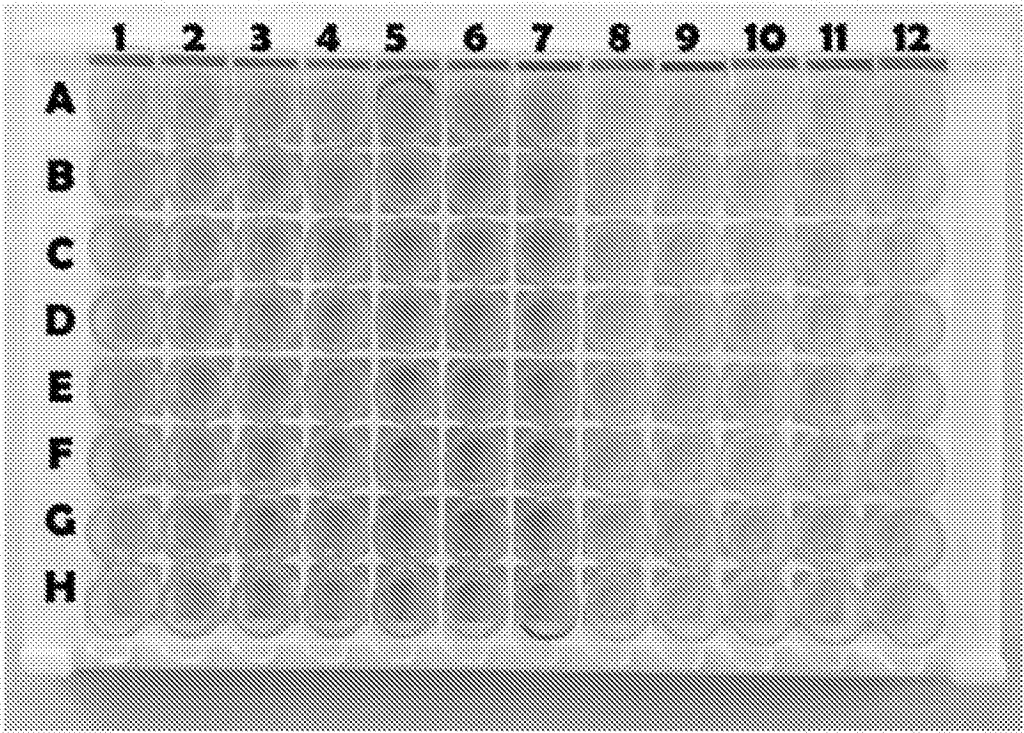


图 1

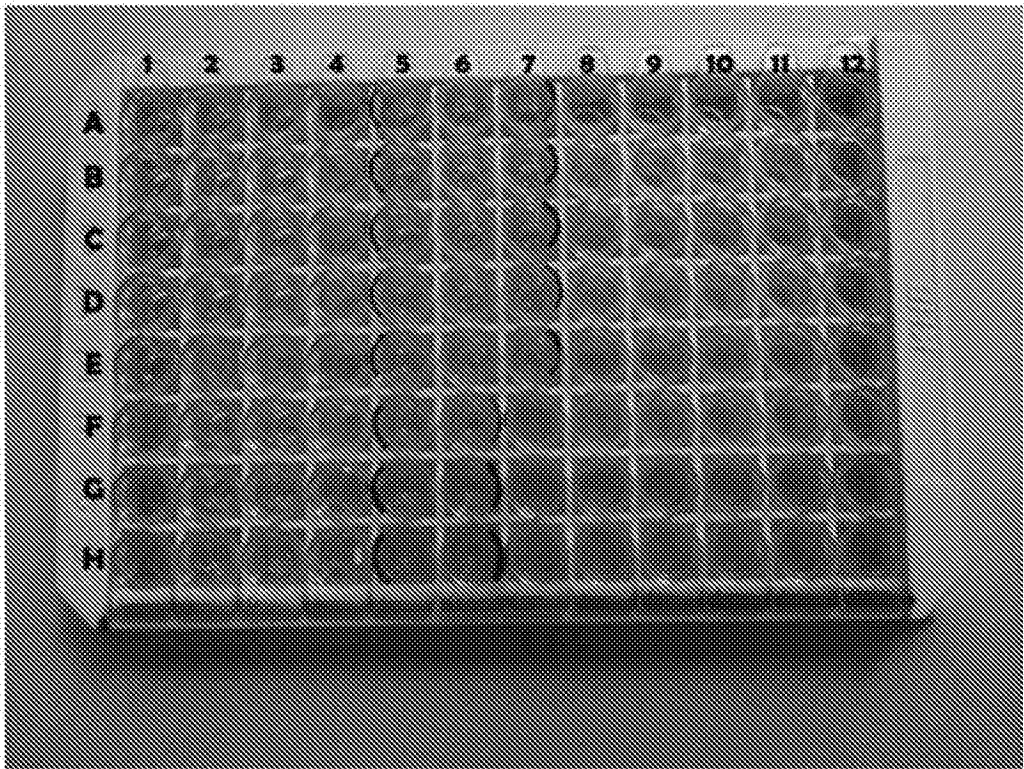


图 2

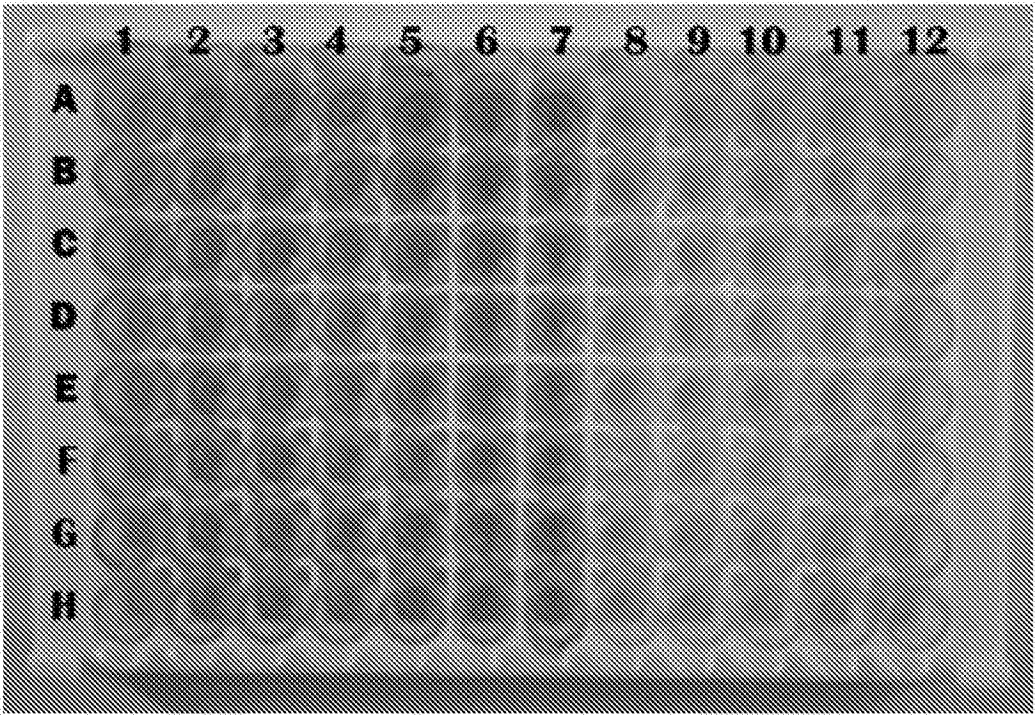


图 3

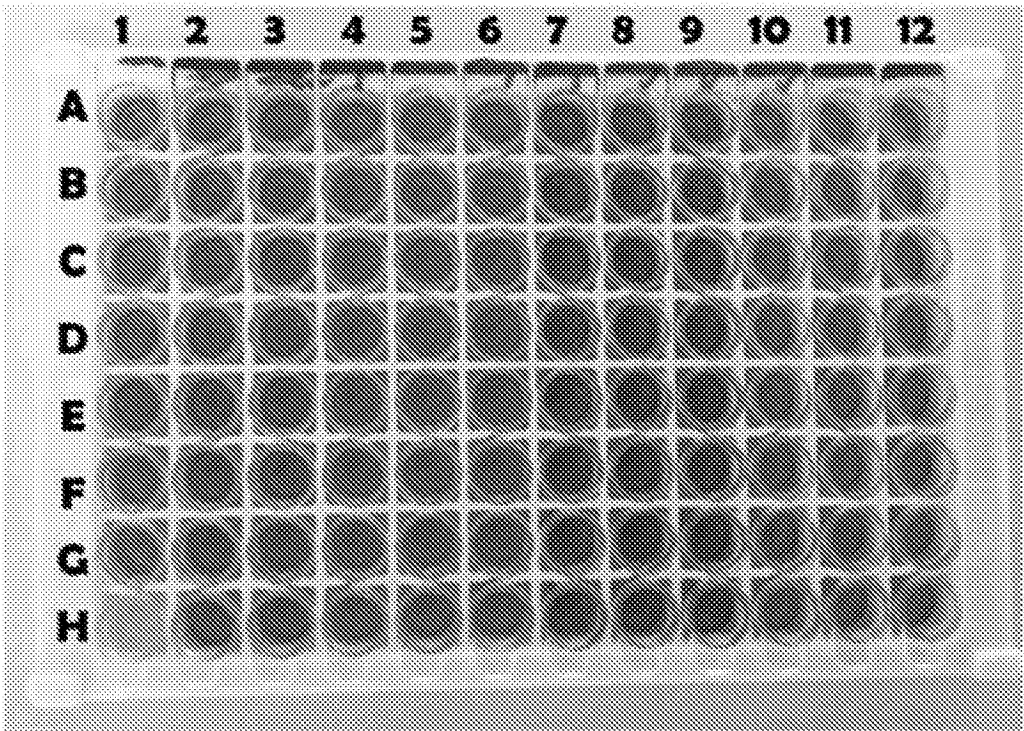


图 4

专利名称(译)	一种显色质控物及其应用		
公开(公告)号	CN103439484B	公开(公告)日	2015-12-23
申请号	CN201310351031.7	申请日	2013-08-13
[标]发明人	余谨 杨茹 付荣 毕昊		
发明人	余谨 杨茹 付荣 毕昊		
IPC分类号	G01N33/53		
代理人(译)	刘杰		
审查员(译)	刘彦宁		
其他公开文献	CN103439484A		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种显色质控物及其应用，属于质控物技术领域。所述显色质控物是在普通质控物中加浓度为0.001g/ml～1g/ml的染色剂得到的。该显色质控物可肉眼与检测标本和阴阳性对照品区分，便于试验时质控物随机分布在检测标本中，更好的发挥质控物的监测作用，并避免加错、漏加质控物。更重要的是该显色质控物能很好的保持其原有稳定的生物化学性状，准确的完成酶联免疫实验。

