



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 106645749 B

(45)授权公告日 2018.07.06

(21)申请号 201611218493.1

(22)申请日 2016.12.26

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 106645749 A

(43)申请公布日 2017.05.10

(73)专利权人 深圳优迪生物技术有限公司
地址 518103 广东省深圳市宝安区福永街
道凤凰第一工业区华源小区B幢第四
层C

(72)发明人 艾峰

(74)专利代理机构 北京清亦华知识产权代理事
务所(普通合伙) 11201
代理人 赵天月

(51)Int.Cl.
G01N 33/68(2006.01)
G01N 33/531(2006.01)

(56)对比文件

US 4654312 A,1987.03.31,全文.

Joseph F Krzyzaniak et al.Lysis of
human red blood cells 2: effect of
contact time on cosolvent induced
hemolysis.《International Journal of
Pharmaceutics》.1997,第152卷(第2期),

田玉旺等.十六烷基三甲基溴化铵在细胞学
血性胸腹水标本制片中的应用.《2011年全国西
安病理技术学术会议暨全军第七届病理技术学
术会议论文集》.2012,

Kameneva, Marina V et al.Polyethylene
Glycol Additives Reduce Hemolysis in Red
Blood Cell Suspensions Exposed to
Mechanical Stress.《ASAI0 Journal》.2003,第
49卷(第5期),

审查员 王在竹

权利要求书1页 说明书10页 附图3页

(54)发明名称

溶血剂及应用

(57)摘要

本发明公开了溶血剂及其应用,该溶血剂包
含:表面活性剂;聚乙二醇;乙二胺四乙酸钠盐;
以及水。本发明的溶血剂能够对全血进行快速有
效溶解,且能够同时满足对血清、血浆和全血(静
脉和末梢)的C-反应蛋白检测且不影响后续免疫
比浊反应的速度。

1. 一种溶血剂,其特征在于,包含:

表面活性剂,所述表面活性剂为选自十二烷基硫酸钠、十四烷基三甲基氯化铵和甜菜碱的至少一种,当所述表面活性剂为选自十二烷基硫酸钠和十四烷基三甲基氯化铵的至少一种时,在所述溶血剂中,所述表面活性剂的质量-体积浓度为0.1%~1%;当所述表面活性剂为甜菜碱时,在所述溶血剂中,所述表面活性剂的质量-体积浓度为0.01%~0.1%;

聚乙二醇,所述聚乙二醇的分子量范围为8000-20000,所述聚乙二醇的质量-体积浓度为0.4%~1%;

乙二胺四乙酸钠盐,所述乙二胺四乙酸钠盐的质量-体积浓度为1%~5%;以及水,

且所述溶血剂的pH值为6.0~8.0。

2. 权利要求1所述的溶血剂在检测血液样本的C-反应蛋白中的非诊断用途。

3. 根据权利要求2所述的用途,其特征在于,所述血液样本为静脉血或末梢血。

4. 根据权利要求2所述的用途,其特征在于,所述血液样本为选自血清、血浆和全血的至少一种。

5. 根据权利要求2所述的用途,其特征在于,所述血液样本为全血。

6. 一种检测血液样本的C-反应蛋白的非诊断方法,其特征在于,利用权利要求1所述的溶血剂检测所述血液样本的C-反应蛋白。

7. 根据权利要求6所述的方法,其特征在于,所述方法包括以下步骤:

将所述溶血剂与所述血液样本混合并进行第一孵育,以便获得第一孵育混合物;

获得所述第一孵育混合物700nm波长下的吸光值A1;

将所述第一孵育混合物与C-反应蛋白抗体胶乳试剂混合并进行第二孵育,以便获得第二孵育混合物;

获得所述第二孵育混合物700nm波长下的吸光值A2;以及

基于A1和A2确定所述血液样本中C-反应蛋白的浓度。

8. 根据权利要求7所述的方法,其特征在于,所述血液样本为静脉血或末梢血。

9. 根据权利要求7所述的方法,其特征在于,所述血液样本为选自血清、血浆和全血的至少一种。

10. 根据权利要求7所述的方法,其特征在于,所述血液样本为全血。

11. 根据权利要求8所述的方法,其特征在于,按照150:1~25:1的体积比,将所述溶血剂与所述血液样本混合。

12. 根据权利要求8所述的方法,其特征在于,于37°C下进行所述第一孵育1分钟。

13. 根据权利要求8所述的方法,其特征在于,所述C-反应蛋白抗体胶乳试剂的体积与所述溶血剂相同。

14. 根据权利要求8所述的方法,其特征在于,于37°C下进行所述第二孵育2分钟。

15. 根据权利要求8所述的方法,其特征在于,基于A1和A2确定所述血液样本中C-反应蛋白的浓度,包括:

基于A1和A2,确定 ΔA ,其中 $\Delta A = A2 - A1$;以及

基于预定标准曲线和 ΔA ,确定所述血液样本中C-反应蛋白的浓度,其中所述预定标准曲线为测量信号对C-反应蛋白校准品的正比曲线。

溶血剂及应用

技术领域

[0001] 本发明涉及体外诊断试剂技术领域,具体涉及溶血剂及其应用。

背景技术

[0002] 体外诊断试剂是指可单独使用或与仪器、器具、设备或系统组合使用,在疾病的预防、诊断、治疗监测、预后观察、健康状态评价以及遗传性疾病的预测过程中,用于对人体样本(各种体液、细胞、组织样本等)进行体外检测的试剂、试剂盒、校准品(物)、质控品(物)等。随着临床体外诊断技术的研究和发展,体外诊断使用最多最重要的人体样本类型当属门诊全血。全血成分相当丰富,除血常规检测细胞等有形成分外,还含血清和血浆中的其他所有化学成分,为避免红细胞、白细胞等对检测的影响,在进行全血中的化学成分测试前,需要将全血进行快速有效溶解,因此溶血剂的效率和作用将对后续样本的检测起到非常关键的作用。

[0003] C-反应蛋白(CRP)是相对分子质量为115~140KD的血清 β 球蛋白,因最早发现其与肺炎球菌的C多糖相结合而得名(1930年),是由5个相同的亚单位以非共价键结合而成的环状五球体。CRP半寿期约15h,正常人CRP的浓度很低(0.068~8.2mg/L),但在组织损伤、急性感染发生后6~8h开始升高,24~48h达峰值,可达正常值的几百倍甚至上千倍,升高幅度与感染程度成正比,炎症治愈后浓度迅速下降,7~12天可恢复正常水平。CRP持续增高提示机体存在慢性炎症或自身免疫疾病,CRP在病毒感染时不会升高,其变化不受病人的个体差异、机体状态和治疗药物的影响。近年来研究证明,CRP具有与IgG和补体相似的调理和凝集作用,促进巨噬细胞的吞噬,刺激单核细胞表面的组织因子表达及其它免疫调节功能。CRP在炎症或组织损伤时皆可升高,但CRP与其他蛋白升高(2~3倍)不同,可升高100~1000倍,尽管为非特异性的,但对于细菌感染、各种炎症过程及组织坏死与损伤及其恢复期的筛检、监测、病情评估与疗效判断,都有重要的价值。

[0004] 以往CRP的检测主要基于生化分析仪或特定蛋白仪上针对血清进行检测,随着研究的进展和发现CRP在细菌和病毒感染表现差异的重要临床价值,以静脉全血或者末梢血作为样本进行CRP的检测就显得异常迫切和重要。

[0005] 然而,目前还没有能够同时满足对血清、血浆和全血(静脉和末梢)的C-反应蛋白检测且不影响后续免疫比浊反应的速度的溶血剂。

发明内容

[0006] 本发明旨在至少解决现有技术中存在的技术问题之一。为此,本发明的一个目的在于提出一种能够同时满足对血清、血浆和全血(静脉和末梢)的C-反应蛋白检测且不影响后续免疫比浊反应的速度的溶血剂。

[0007] 需要说明的是,本发明是基于发明人的下列发现而完成的:

[0008] 发明人研究发现,CRP(体C-反应蛋白)是人体在感染发生后的极性相反反应蛋白,早期临床上几乎均是针对人体血清样本进行测试,最近几年由于研发发现CRP对病毒感染和

对细菌感染的升高水平差异性表现而发展为与血常规测试配合针对全血样本进行测试。但由于血清是采用自然凝固或加入促凝剂或分离胶并经离心除去纤维蛋白及血液有形成分的均一性样本,与含有红细胞、白细胞、血小板等有形成分的未经任何处理的全血有很大的差异。全血样本和血清样本的测定过程本质都是人体C-反应蛋白与对应的CRP抗体发生免疫结合从而产生沉淀的反应,两者的差异在于是否存在溶血的过程。而全血C-反应蛋白的检测,由于全血成分复杂,需溶血过程,影响因素较多。

[0009] 血清样本均一、干扰成分少,无需溶血过程,目前针对血清的CRP检测试剂盒中,试剂1成分简单,主要是一些缓冲盐溶液,起到稳定反应体系的作用即可,加入试剂2乳胶抗体即可产生反应。通常称为一步法完成测试。

[0010] 对于全血样本,溶血本身是一个很简单的过程,关键在于如需要快速溶血,比如10s以内,则需要加入足够浓度的能快速破坏血液细胞并溶解细胞壁上的脂类等成分的表面活性剂,表面活性剂强度不足(亲水亲油平衡值低)则溶血慢或者不充分,表面活性剂过强,则会通过破坏后续加入的CRP乳胶抗体(其本质是胶体溶液)的水化层从而破坏反应体系的稳定性(表现为加入试剂2乳胶抗体后吸光值下降从而反应信号为负,或者为加入试剂2乳胶抗体后测试水空白时吸光值异常升高,产生强烈的本地反应导致正常样本反应信号低于水空白),影响反应的特异性和反应速度。由于全血样本溶血剂对后续反应的干扰问题,当前市面上的全血CRP检测试剂几乎均为两步法,即第一步先加稀释液(溶血剂)对全血样本进行溶血,然后第二步再取溶血后的样本进行反应,这样由于稀释过程和反应过程分开,加入的稀释液样本体积远小于一步法中需加入的试剂1体积,所以对后续免疫比浊反应影响小;如测试血清样本则不需要第一步样本稀释(溶血)过程。部分厂家直接注册两种试剂盒,一种只适用于血清样本,一种只适用于全血样本。因而,目前市场在用尤其是国产的C-反应蛋白(CRP)检测试剂盒,基本是血清/血浆检测和全血检测试剂分开,即采用不同试剂,这样无论是对于企业还是临床检测实验室,既不方便也增加了成本负担。

[0011] 但是,同一种试剂要同时满足对血清、血浆和全血(静脉和末梢)的检测且不影响后续免疫比浊反应的速度,具有一定难度。因而,发明人继续进行了一系列的实验探索和研究,以期寻找到一种能够对全血进行快速有效溶解,并能够同时满足对血清、血浆和全血(静脉和末梢)的C-反应蛋白检测且不影响后续免疫比浊反应的速度的溶血剂。从而,最终得到了本发明的溶血剂。本发明的溶血剂,含有多种表面活性剂及缓冲成分,可以在很短的时间内完成溶血(对静脉全血和末梢血)过程,并直接加入试剂2(乳胶CRP抗体)进行反应,无需样本稀释(溶血)过程,免疫比浊反应进程不受影响;溶血剂对血清、血浆无影响,即血清和血浆可以同全血一样与乳胶CRP抗体顺利产生免疫比浊反应,从而能够实现针对血清、血浆、全血均一步法完成测试过程。

[0012] 因而,在本发明的一个方面,本发明提供了一种溶血剂。根据本发明的实施例,该溶血剂包含:表面活性剂;聚乙二醇;乙二胺四乙酸钠盐;以及水。如前所述,目前市售的C-反应蛋白(CRP)检测试剂盒分为适用于血清和全血两种,通用性较差,而本发明的溶血剂能够同时满足对血清、血浆和全血(静脉和末梢)的C-反应蛋白检测且不影响后续免疫比浊反应的速度。从而,将本发明的溶血剂用于C-反应蛋白(CRP)检测,能够有效解决同一种试剂适用于与多种临床样本的兼容性问题,可分别临床使用需求,并减少成本。并且,根据本发明的实施例,本发明的溶血剂能够对全血进行快速有效溶解。

[0013] 根据本发明的实施例,所述溶血剂的pH值为6.0~8.0。

[0014] 根据本发明的实施例,所述表面活性剂为选自十二烷基硫酸钠、十四烷基三甲基氯化铵和甜菜碱的至少一种。

[0015] 根据本发明的实施例,当所述表面活性剂为选自十二烷基硫酸钠和十四烷基三甲基氯化铵的至少一种时,在所述溶血剂中,所述表面活性剂的质量-体积浓度为0.1‰~1‰;当所述表面活性剂为甜菜碱时,在所述溶血剂中,所述表面活性剂的质量-体积浓度为0.01%~0.1%。

[0016] 根据本发明的实施例,所述聚乙二醇的分子量范围为8000-20000。

[0017] 根据本发明的实施例,在所述溶血剂中,所述聚乙二醇的质量-体积浓度为0.4%~1%。

[0018] 根据本发明的实施例,在所述溶血剂中,所述乙二胺四乙酸钠盐的质量-体积浓度为1‰~5‰。

[0019] 其中,在本文中所述的“质量-体积浓度”=溶质的质量数(克)/溶液的体积(升),即1‰=1克/升。

[0020] 发明人惊奇地发现,在本发明的溶血剂中,表面活性剂,特别是十二烷基硫酸钠、十四烷基三甲基氯化铵或者甜菜碱;聚乙二醇,特别是分子量8000-20000的聚乙二醇;这几个组分的配伍,可以高效快速溶血并保证后续免疫比浊反应的顺利快速进行。含有质量-体积浓度为0.1‰~1‰的十二烷基硫酸钠或者十四烷基三甲基氯化铵、质量-体积浓度为0.4%~1%的聚乙二醇8000-2000、质量-体积浓度为1‰~5‰的二胺四乙酸钠、且pH为6.0-8.0的C-反应蛋白(CRP)检测用溶血剂性能完全满足商品化的要求,尤其是能够同时满足对血清、血浆和全血(静脉和末梢)的C-反应蛋白检测且不影响后续免疫比浊反应的速度。

[0021] 在本发明的另一方面,本发明提供了前面所述的溶血剂在检测血液样本的C-反应蛋白中的用途。根据本发明的实施例,将本发明溶血剂与全血样本混合孵育,然后加入C-反应蛋白(CRP)抗体胶乳试剂混合后孵育,然后按照常规方法,检测加入胶乳试剂前后混合物在700nm波长下的吸光值的差值,基于该差值与CRP的浓度成正比,通过与对应的标准曲线比较即可得到样本的C-反应蛋白检测结果。

[0022] 根据本发明的实施例,所述血液样本为静脉血或末梢血。

[0023] 根据本发明的一些具体示例,所述血液样本为选自血清、血浆和全血的至少一种,优选全血。

[0024] 在本发明的又一方面,本发明还提供了一种检测血液样本的C-反应蛋白的方法。根据本发明的实施例,该方法为利用前面所述的溶血剂检测所述血液样本的C-反应蛋白。如前所述,该方法通过将本发明溶血剂与血液样本混合孵育,然后加入C-反应蛋白(CRP)抗体胶乳试剂混合后孵育,然后按照常规方法,检测加入胶乳试剂前后混合物在700nm波长下的吸光值的差值,进而,基于该差值与CRP的浓度成正比,通过与对应的标准曲线比较即可得到样本的C-反应蛋白检测结果。

[0025] 根据本发明的实施例,所述方法包括以下步骤:将所述溶血剂与所述血液样本混合并进行第一孵育,以便获得第一孵育混合物;获得所述第一孵育混合物700nm波长下的吸光值A1;将所述第一孵育混合物与C-反应蛋白抗体胶乳试剂混合并进行第二孵育,以便获

得第二孵育混合物;获得所述第二孵育混合物700nm波长下的吸光值A2;以及基于A1和A2确定所述血液样本中C-反应蛋白的浓度。由此,能够快速有效地得到样本的C-反应蛋白检测结果,且成本低,而结果准确可靠,重复性好。

[0026] 根据本发明的实施例,所述血液样本为静脉血或未梢血。

[0027] 根据本发明的一些实施例,所述血液样本为选自血清、血浆和全血的至少一种,优选全血。

[0028] 根据本发明的实施例,按照150:1~25:1的体积比,将所述溶血剂与所述血液样本混合。由此,溶血效率高、效果好。

[0029] 根据本发明的实施例,于37℃下进行所述第一孵育1分钟。由此,溶血效率高、效果好。

[0030] 根据本发明的实施例,所述C-反应蛋白抗体胶乳试剂的体积与所述溶血剂相同。

[0031] 根据本发明的实施例,于37℃下进行所述第二孵育2分钟。

[0032] 根据本发明的实施例,基于A1和A2确定所述血液样本中C-反应蛋白的浓度,包括:

[0033] 基于A1和A2,确定 ΔA ,其中 $\Delta A=A_2-A_1$;以及

[0034] 基于预定标准曲线和 ΔA ,确定所述血液样本中C-反应蛋白的浓度,其中所述预定标准曲线为所述C-反应蛋白抗体胶乳试剂对C-反应蛋白校准品的正比曲线。

[0035] 其中, ΔA 即为所述第一孵育混合物700nm波长下的吸光值A1和所述第二混合物700nm波长下的吸光值A2的差值,即 $\Delta A=A_2-A_1$ 。所述预定标准曲线是利用本发明的溶血剂配合测定时采用的CRP胶乳抗体试剂对C-反应蛋白(CRP)校准品而建立的。 ΔA 与CRP的浓度成正比。

[0036] 此外,还需要说明的是,根据本发明的实施例,与现有技术相比,本发明具有下列优点的至少之一:

[0037] 1) 对静脉全血和末梢血的溶血效率高,10秒内可完全溶解;

[0038] 2) 不影后续免疫比浊反应进程,反应信号高,灵敏度好,检测CRP可低至0.1mg/L;

[0039] 3) 同时适用于血清、各种抗凝血浆,一种试剂可应用于多种设备和临床科室;

[0040] 4) 测试方法简单快捷,综合比较,使用本发明方法的溶血剂进行C-反应蛋白检测的较市面普遍使用的CRP检测试剂具有明显优势。

[0041] 本发明的附加方面和优点将在下面的描述中部分给出,部分将从下面的描述中变得明显,或通过本发明的实践了解到。

附图说明

[0042] 本发明的上述和/或附加的方面和优点从结合下面附图对实施例的描述中将变得明显和容易理解,其中:

[0043] 图1为根据本发明实施例的溶血剂对静脉全血的溶血示意图;

[0044] 图2为根据本发明实施例的溶血剂对末梢血的溶血示意图;

[0045] 图3为根据本发明实施例的检测血液样本的C-反应蛋白的方法的流程示意图;

[0046] 图4为根据本发明的实施例,使用本发明的溶血剂配合CRP胶乳抗体试剂对C-反应蛋白(CRP)校准品建立的校准曲线示意图;以及

[0047] 图5为根据本发明的实施例,本发明全血C-反应蛋白(CRP)测定方法与已上市试剂

(对照)的方法学对比一致性示意图。

具体实施方式

[0048] 下面将结合实施例对本发明的方案进行解释。本领域技术人员将会理解,下面的实施例仅用于说明本发明,而不应视为限定本发明的范围。实施例中未注明具体技术或条件的,按照本领域内的文献所描述的技术或条件或者按照产品说明书进行。所用试剂或仪器未注明生产厂商者,均为可以通过市购获得的常规产品。

[0049] 实施例1

[0050] 按照以下流程配制溶血剂:

[0051] 1、表面活性剂母液配制:称取十二烷基硫酸钠(SDS)0.34g,加入100ml纯化水,搅拌使其充分溶解,用1mol/L盐酸调pH为7.25。

[0052] 2、聚乙二醇母液配制:称取聚乙二醇8000(PEG8000)11.3g,加入100ml纯化水,搅拌使其充分溶解。

[0053] 3、乙二胺四乙酸(EDTA)钠盐缓冲液配制:称取乙二胺四乙酸二钠聚0.34g,加入100ml纯化水,搅拌使其充分溶解,用1mol/L盐酸调pH为7.25。

[0054] 4、将表面活性剂母液、聚乙二醇母液、乙二胺四乙酸钠缓冲液按1:3:30进行充分混合,得到本发明的全血C-反应蛋白(CRP)检测用溶血剂。

[0055] 实施例2

[0056] 按照以下流程配制溶血剂:

[0057] 1、表面活性剂母液配制:称取十四烷基三甲基氯化铵(TTAC)1.0g,加入100ml纯化水,搅拌使其充分溶解,用1mol/L盐酸调pH为6.80。

[0058] 2、聚乙二醇母液配制:称取聚乙二醇20000(PEG20000)4.5g,加入100ml纯化水,搅拌使其充分溶解。

[0059] 3、乙二胺四乙酸(EDTA)盐缓冲液配制:称取乙二胺四乙酸二钠聚0.56g,加入100ml纯化水,搅拌使其充分溶解,用1mol/L盐酸调pH为6.80。

[0060] 4、将表面活性剂母液、聚乙二醇母液、乙二胺四乙酸钠缓冲液按1:3:30进行充分混合,得到本发明的全血C-反应蛋白(CRP)检测用溶血剂。

[0061] 实施例3

[0062] 按照以下流程配制溶血剂:

[0063] 1、表面活性剂母液配制:称取甜菜碱3.4g,加入100ml纯化水,搅拌使其充分溶解,用1mol/L盐酸调pH为6.0。

[0064] 2、聚乙二醇母液配制:称取聚乙二醇10000(PEG10000)10.0g,加入100ml纯化水,搅拌使其充分溶解。

[0065] 3、乙二胺四乙酸(EDTA)盐缓冲液配制:称取乙二胺四乙酸二钠聚0.11g,加入100ml纯化水,搅拌使其充分溶解,用1mol/L盐酸调pH为6.0。

[0066] 4、将表面活性剂母液、聚乙二醇母液、乙二胺四乙酸钠缓冲液按1:3:30进行充分混合,得到本发明的全血C-反应蛋白(CRP)检测用溶血剂。

[0067] 实施例4溶血剂的溶血效果检测

[0068] 随机抽取7份新鲜血常规检测用静脉全血和3份新鲜末梢全血作为样本,分别利用

实施例1-3配制获得的本发明的溶血剂,按溶血剂与血液样本体积比50:1的比例混合,上机检测700nm波长下的吸光值变化(检测采用锦瑞PA50特定蛋白仪进行),静脉全血和末梢全血的反应信号变化过程示意如图1和图2。

[0069] 如图1-2所示,针对静脉全血和末梢全血,溶血剂均能在约10秒时间内(图中一个读点为12秒)有效完全溶解并达到平衡,后续免疫比浊反应未受到影响。

[0070] 实施例5C-反应蛋白(CRP)的测定

[0071] 利用实施例1-3配制获得的本发明的溶血剂,参照图3所示的方法,分别测定待测血液样本中的C-反应蛋白,具体步骤如下:

[0072] 1、校准曲线建立

[0073] 利用本发明的溶血剂配合某品牌CRP胶乳抗体试剂对该公司可溯源至国际参考物CRM470的CRP校准品进行定标(溶血剂:样本:胶乳抗体试剂的体积比=50:1:50),所得标准曲线如图4。该标准曲线即为所述C-反应蛋白抗体胶乳试剂对C-反应蛋白校准品的正比曲线。

[0074] 图4中校准曲线光滑,各点反应信号区分明显,校准曲线建立成功。

[0075] 2、血C-反应蛋白(CRP)检测用溶血剂准确性检测:

[0076] 选取不同浓度分布的20份新鲜血清和20份新鲜全血与已经上市的分别检测血清和全血的试剂盒进行方法学对比测试。

[0077] 其中,血清CRP测试试剂盒(对比试剂1):R1为缓冲液,R2为CRP乳胶抗体,厂家为日本Denka Seiken,R1货号600967;全血CRP测试试剂盒(对比试剂2):厂家为深圳迈瑞,包括溶血剂和CRP乳胶试剂两个独立的试剂盒,溶血剂货号为105-004856-00,CRP乳胶试剂盒货号为105-0048860-00。

[0078] 对照(对比试剂1和对比试剂2)采用其试剂盒对应的流程进行操作。

[0079] 针对实施例1-3配制获得的本发明的溶血剂,如前所述,测定流程参照图2所示,具体如下:

[0080] 将溶血剂与血液样本混合,并于37℃下进行第一孵育1分钟,以便获得第一孵育混合物;

[0081] 获得所述第一孵育混合物700nm波长下的吸光值A1;

[0082] 将所述第一孵育混合物与C-反应蛋白抗体胶乳试剂混合,并于37℃下进行第二孵育2分钟,以便获得第二孵育混合物;

[0083] 获得所述第二孵育混合物700nm波长下的吸光值A2;

[0084] 基于A1和A2,确定 ΔA ,其中 $\Delta A=A2-A1$;以及

[0085] 基于前述确定的标准曲线和 ΔA ,确定所述血液样本中C-反应蛋白的浓度(ΔA 与CRP的浓度成正比)。

[0086] 其中,溶血剂:样本:胶乳抗体试剂的体积比=50:1:50。

[0087] 以实施例1的溶血剂的结果为例,40份样本的结果如表1,结果一致性示意图如图5所示。

[0088] 表1C-反应蛋白(CRP)检测结果

[0089]

样本	实施例 1 试剂结果	实施例 2 试剂结果	对比试 剂 1 结果	样本	实施例 1 试剂结果	实施例 2 试剂结果	对比试 剂 2 结果
血清 1	1.3	0.8	1.2	全血 1	0.3	0.4	0.9
血清 2	0.6	0.9	0.8	全血 2	0.9	1.6	0.7
血清 3	6.2	5.9	7.3	全血 3	2.2	3.2	3.3
血清 4	3.7	4.4	3.7	全血 4	1.6	1.6	0.9

[0090]

血清 5	9.0	9.9	8.9	全血 5	16.2	17.9	13.8
血清 6	2.1	1.9	2.3	全血 6	7.7	9.1	8
血清 7	25.5	22.1	26.1	全血 7	3.6	4.5	3.8
血清 8	0.3	0.8	1.0	全血 8	5.3	6.1	4.9
血清 9	1.1	1.3	1.0	全血 9	0.6	0.7	1.0
血清 10	3.8	4.2	5.2	全血 10	26.1	24.8	32.1
血清 11	4.6	3.7	5.3	全血 11	13.1	11.9	14.1
血清 12	66.1	53.1	57.3	全血 12	45.2	39.5	42.1
血清 13	102.4	105.3	119.7	全血 13	80.8	85.2	76.1
血清 14	11.2	12.1	10.3	全血 14	109.7	115.2	11.5
血清 15	152.6	156.1	149.7	全血 15	0.7	0.7	1.2
血清 16	9.2	13.2	11.1	全血 16	3.7	3.2	5.2
血清 17	11.5	10.3	12.1	全血 17	197.2	210.4	202
血清 18	2.7	4.7	3.2	全血 18	8.2	7.7	9.1
血清 19	1.3	1.5	1.1	全血 19	11.3	10.2	13.1
血清 20	263.1	271.2	256.2	全血 20	12.4	13.6	10.9

[0091] 由表1和图5的结果可知,本发明中实例1和实例2所述的溶血剂对血清和全血样本

的反应及作用与对比试剂表现一致性非常好。

[0092] 实施例6

[0093] 参照实施例1的方法流程,按下表2的成分组成分别配制系列溶血剂。

[0094] 表2溶血剂成分组合及上机比例

[0095]

成分/试剂	试剂 1	试剂 2	试剂 3	试剂 4	对照
SDS	0.1‰	0.5‰			
TTAC			1‰	0.6‰	
PEG8000	0.4%		1%		实施例 1 的
PEG20000		1%		0.4%	试剂, 且溶
EDTA	1‰	5‰	4‰	2‰	血剂: 样本:
pH 值	7.5	8.0	6.0	6.5	胶乳的体积
溶血剂: 样					比=50:1:50
本: 胶乳体	150:1:150	25:1:25	50:1:50	100:1:100	
积比					

[0096] 即得本发明的溶血剂:试剂1-4。

[0097] 然后,参照实施例5的CRP测定方法,分别对试剂1-4(对照如表2所示)进行定标和测试10组同一病人来源的全血样本,测试结果如表3。

[0098] 表3

[0099]

样本	试剂 1 结果	试剂 2 结果	试剂 3 结果	试剂 4 结果	对照结果	CV
全血 1	0.43	0.51	0.48	0.39	0.41	11.2%
全血 2	0.21	0.24	0.28	0.23	0.19	14.7%
全血 3	1.12	0.97	0.98	1.08	1.02	6.3%
全血 4	2.75	2.22	2.85	2.49	2.43	9.9%
全血 5	4.53	4.18	4.82	4.44	5.21	8.5%
全血 6	12.76	13.42	13.22	12.86	13.15	2.1%
全血 7	42.51	41.11	45.03	43.19	40.39	4.3%

[0100]

全血 8	85.23	81.85	88.28	84.39	87.22	2.9%
全血 9	126.31	122.11	130.29	126.83	128.08	2.4%
全血 10	199.21	204.17	213.2	207.43	205.15	2.5%

[0101] 由表3可知,本发明的溶血剂的各组分组合,测试全血C-反应蛋白结果差异不大,除0.5以下的低值外,其他差异均在10%以内,说明本发明的各组合的溶血剂均可达到相同的溶血效果。

[0102] 在本说明书的描述中,参考术语“一个实施例”、“一些实施例”、“示例”、“具体示例”、或“一些示例”等的描述意指结合该实施例或示例描述的具体特征、结构、材料或者特点包含于本发明的至少一个实施例或示例中。在本说明书中,对上述术语的示意性表述不一定指的是相同的实施例或示例。而且,描述的具体特征、结构、材料或者特点可以在任何一个或多个实施例或示例中以合适的方式结合。

[0103] 尽管已经示出和描述了本发明的实施例,本领域的普通技术人员可以理解:在不脱离本发明的原理和宗旨的情况下可以对这些实施例进行多种变化、修改、替换和变形,本发明的范围由权利要求及其等同物限定。

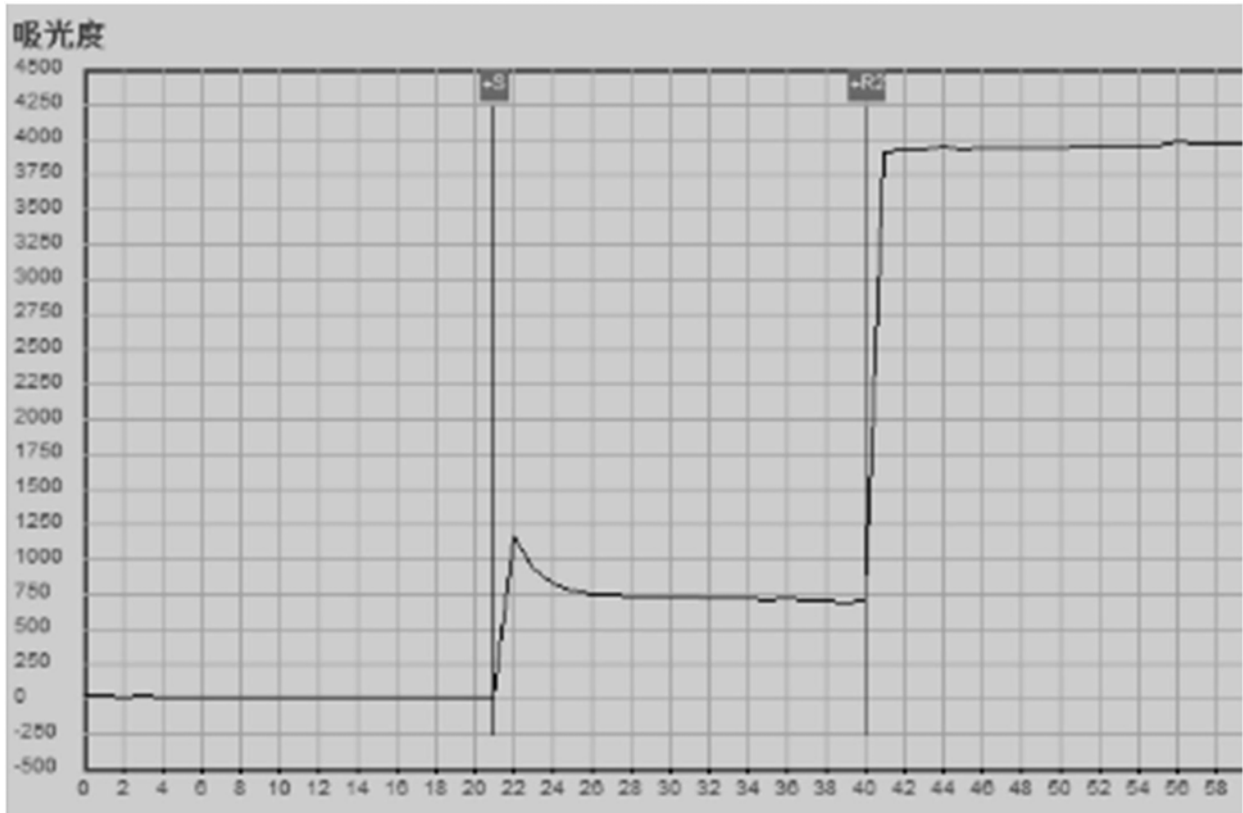


图1

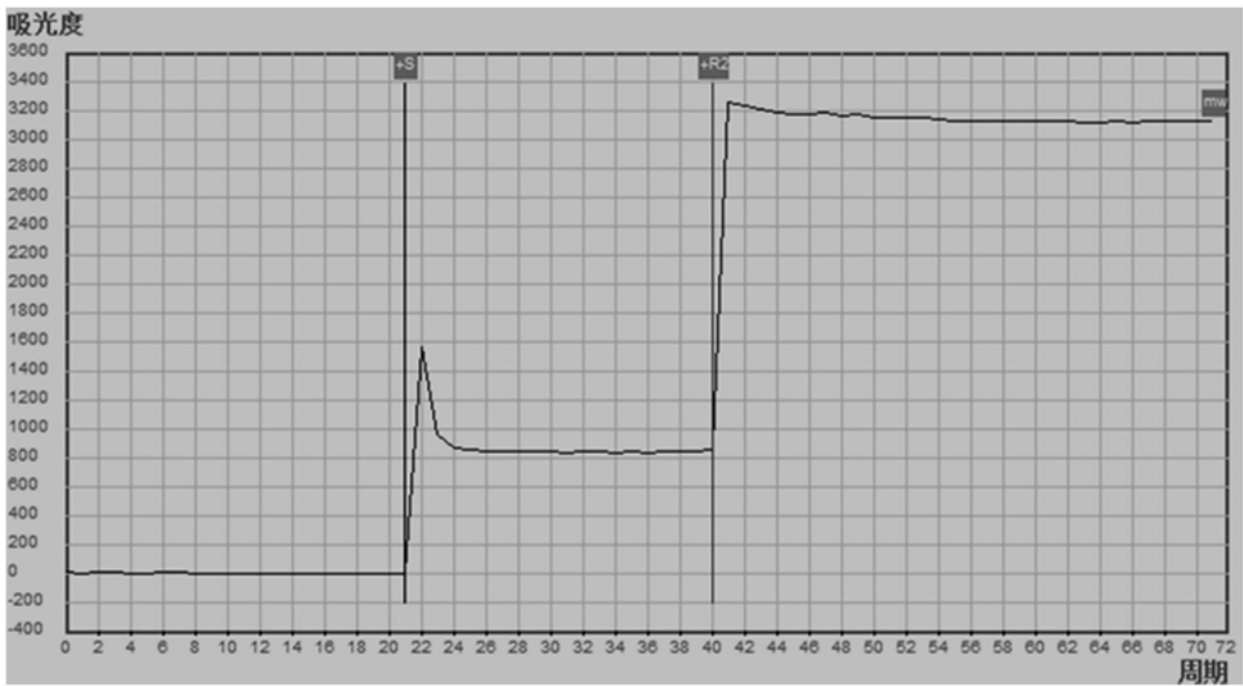


图2

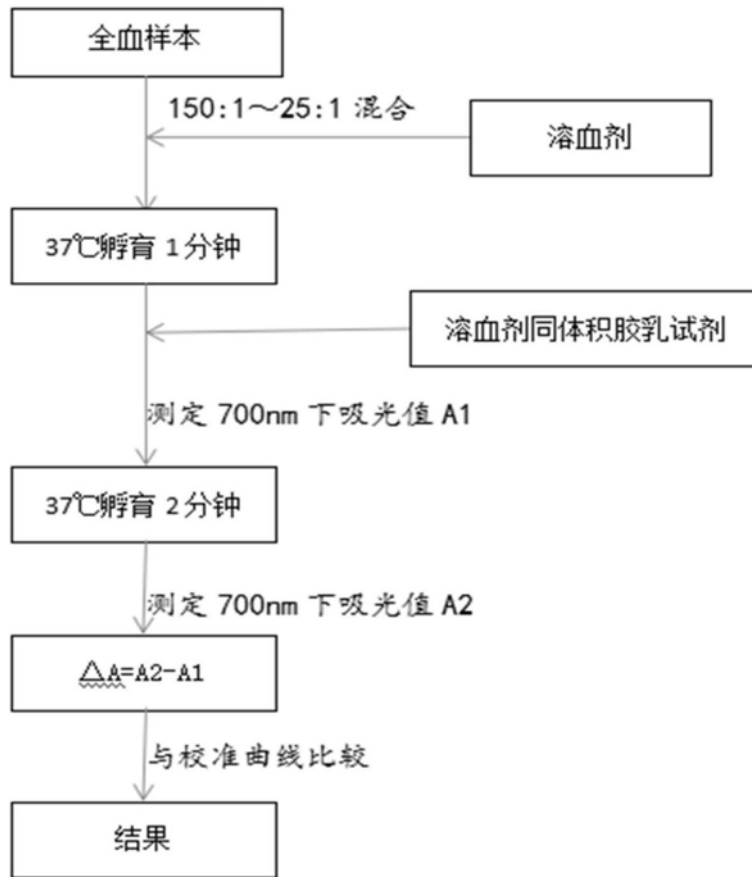


图3

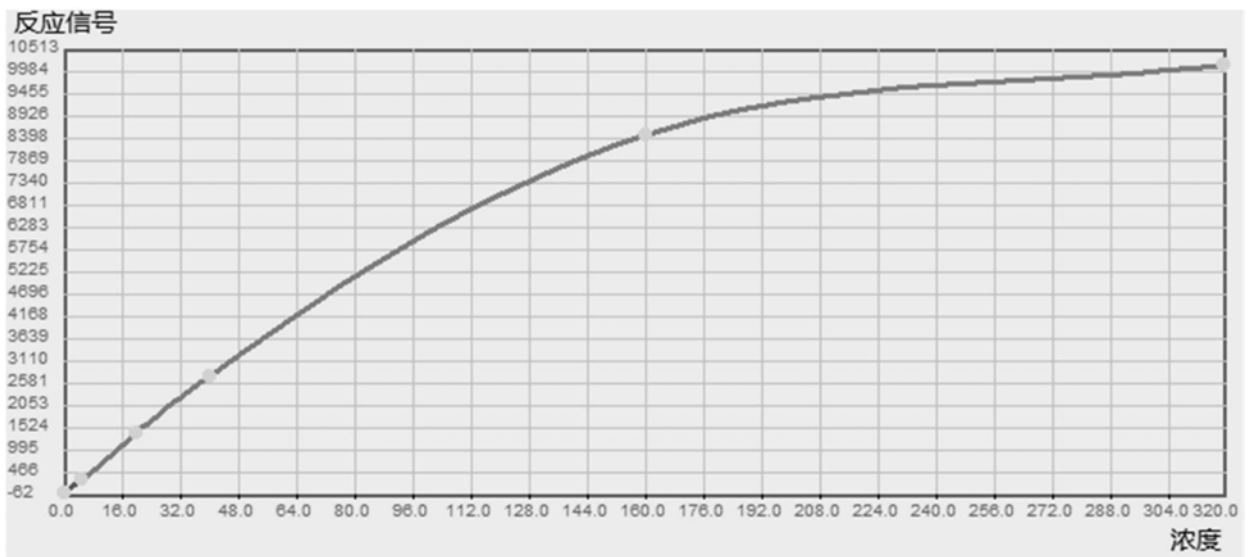


图4

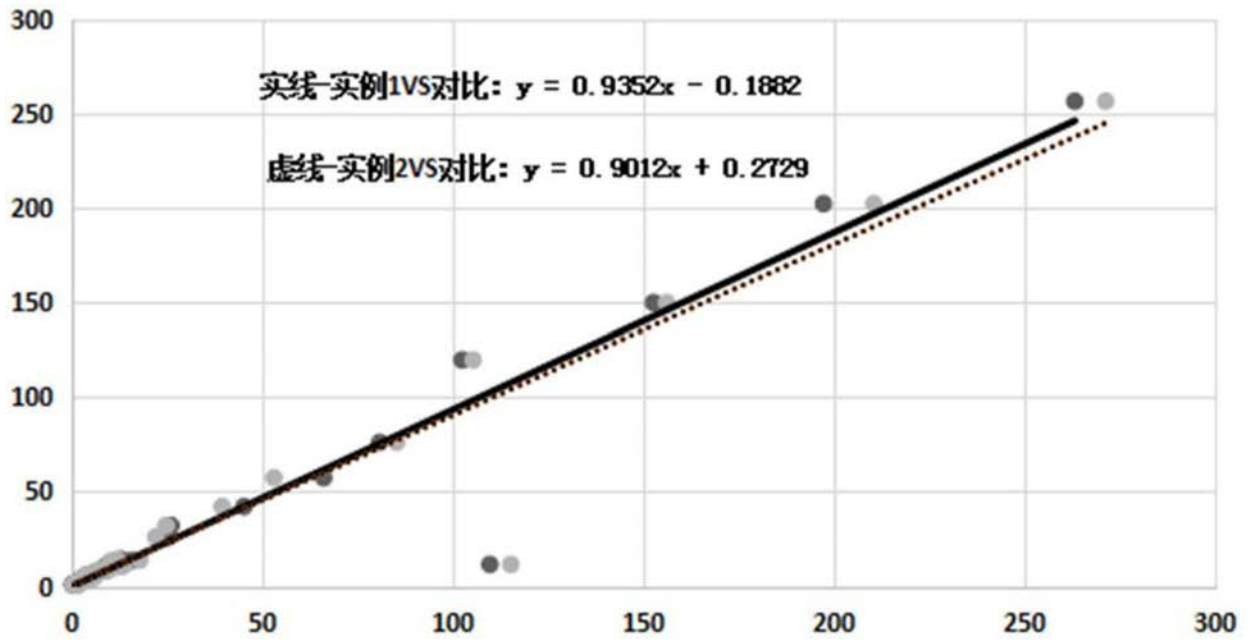


图5

专利名称(译)	溶血剂及应用		
公开(公告)号	CN106645749B	公开(公告)日	2018-07-06
申请号	CN201611218493.1	申请日	2016-12-26
[标]申请(专利权)人(译)	深圳优迪生物技术有限公司		
申请(专利权)人(译)	深圳优迪生物技术有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	深圳优迪生物技术有限公司		
[标]发明人	艾峰		
发明人	艾峰		
IPC分类号	G01N33/68 G01N33/531		
CPC分类号	G01N33/531 G01N33/68		
代理人(译)	赵天月		
其他公开文献	CN106645749A		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了溶血剂及其应用，该溶血剂包含：表面活性剂；聚乙二醇；乙二胺四乙酸钠盐；以及水。本发明的溶血剂能够对全血进行快速有效溶解，且能够同时满足对血清、血浆和全血(静脉和末梢)的C-反应蛋白检测且不影响后续免疫比浊反应的速度。

样本	实施例1 试剂结果	实施例2 试剂结果	对比试 剂1结果	样本	实施例1 试剂结果	实施例2 试剂结果	对比试 剂2结果
血清1	1.3	0.8	1.2	全血1	0.3	0.4	0.9
血清2	0.6	0.9	0.8	全血2	0.9	1.6	0.7
血清3	6.2	5.9	7.3	全血3	2.2	3.2	3.3
血清4	3.7	4.4	3.7	全血4	1.6	1.6	0.9