



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107656043 A

(43)申请公布日 2018.02.02

(21)申请号 201710861832.6

(22)申请日 2017.09.21

(71)申请人 苏州新波生物技术有限公司  
地址 215400 江苏省苏州市太仓市经济开发  
区太平北路115号

(72)发明人 郝亚澎 胡星海

(74)专利代理机构 上海申新律师事务所 31272  
代理人 竺路玲

(51)Int.Cl.  
G01N 33/53(2006.01)  
G01N 21/76(2006.01)

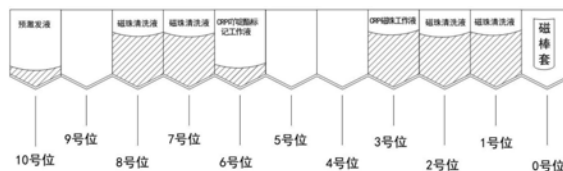
权利要求书2页 说明书17页 附图4页

(54)发明名称

一种C反应蛋白磁微粒检测试剂盒及其使用方法

(57)摘要

本发明公开了一种C反应蛋白检测试剂盒及其使用方法,该试剂盒包括由若干并排设置的孔位组成的试剂条,试剂条包含的试剂有CRP磁珠工作液、CRP吡啶酯标记工作液;该试剂盒还包括校准品、预激发液、激发液以及磁珠清洗液,且在试剂条上的一孔位内设有磁棒套。本发明提供的C反应蛋白检测试剂盒及其使用方法基于化学发光免疫分析技术,提高了C反应蛋白检测的灵敏度、特异性和精密性,并使检测能够适用于更多样本类型,且能够最大限度地消除样本差异对检测的影响。



1. 一种C反应蛋白检测试剂盒,其特征在于,包括由若干并排设置的孔位组成的试剂条,所述试剂条包含的试剂有CRP磁珠工作液、CRP吡啶酯标记工作液。

2. 根据权利要求1所述的C反应蛋白检测试剂盒,其特征在于,所述CRP磁珠工作液是含有标记有抗-CRP抗体的磁性微球。

3. 根据权利要求1所述的C反应蛋白检测试剂盒,其特征在于,所述CRP吡啶酯标记工作液是含有吡啶酯标记的抗-CRP抗体。

4. 根据权利要求2所述的C反应蛋白检测试剂盒,其特征在于,所述试剂条上的一孔位内设有磁棒套。

5. 根据权利要求1所述的C反应蛋白检测试剂盒,其特征在于,所述试剂盒还包括校准品、预激发液以及磁珠清洗液。

6. 根据权利要求5所述的C反应蛋白检测试剂盒,其特征在于,所述试剂条上的0号位设有磁棒套;1、2号位设有磁珠清洗液;3号位设有CRP磁珠工作液;6号位设有CRP吡啶酯标记工作液;7、8号位设有磁珠清洗液;10号位设有预激发液。

7. 一种采用权利要求1-4任一项所述试剂盒的使用方法,其特征在于,检测时,所述试剂条(4)置放于孵育仓(3)内,所述孵育仓(3)设置于输送带(2)上,所述输送带(2)连接水平位移电机(1),所述输送带(2)的末端设有分析读数模块(13);并采用可相对磁棒套(5)上下移动的上吸式磁珠转移枪实现所述试剂条上取磁棒套、吸取磁珠、磁珠洗脱、磁珠混匀、磁棒套打脱动作;

所述上吸式磁珠转移枪,包括可与所述磁棒套(5)过盈连接的提取枪枪头(12)、位于所述提取枪枪头(12)轴心线上用于吸附磁珠(16)的磁棒(15),所述磁棒(15)由提取电机(10)驱动并相对所述提取枪枪头(12)上下移动;

包括如下使用步骤:

步骤1,选择项目:根据样本选择CRP项目,把试剂条插入仪器反应通道中,点击开始;

步骤2,扫码:仪器扫描试剂条封口铝膜表面的二维码,确认批号、校准曲线等信息是否与软件中的主曲线相匹配;

步骤3,戳孔:试剂条运行到戳孔位,戳孔模块进行戳孔;

步骤4,取磁棒套:试剂条运行到0号磁棒套位,通过转移枪取磁棒套5;

步骤5,加样:加样枪取到tip头,吸取20uL样本,加入到试剂条1号孔磁珠清洗液中;

步骤6,样本稀释:加样枪以吸打的方式对样本进行第一步稀释,同样对2号孔中样本进行第二步稀释混匀后,吸取100uL稀释好的样本,加入到4号孔中;

稀释完成后,加样枪把用过的tip头打入废tip头盒中统一收集;

步骤7,磁珠提取:磁棒套加磁,提取3号孔中的磁珠;

步骤8,第一步孵育:把磁珠提取至4号孔,进行第一步反应;

步骤9,磁珠提取:第一步孵育完成后,磁棒套加磁,提取4号孔中的磁珠;

步骤10,第二步孵育:把磁珠提取至6号标记工作液孔,进行第二步反应;

步骤11,磁珠清洗:把磁珠依次提取至7、8号孔进行两次清洗;

步骤12,检测:把磁珠提取至10号预激发液孔,试剂条运行至读数位,读数模块遮光罩落下,加200uL激发液至10号孔中,同时光电倍增管收集发光信号;

步骤13,计算结果:软件根据每批试剂对应的校准曲线,把相对发光强度代入曲线中,

计算出样板对应的浓度。

8. 根据权利要求7所述试剂盒的使用方法,其特征在于,所述提取电机(10)安装于所述转移枪(11)顶端,且所述提取电机(10)通过电机轴(14)与所述磁棒(15)连接。

9. 根据权利要求7所述试剂盒的使用方法,其特征在于,所述提取枪枪头(12)可与所述磁棒套(5)的内壁或其外壁过盈连接。

10. 根据权利要求7所述试剂盒的使用方法,其特征在于,所述转移枪(11)由设置于基板(7)上的纵向位移电机(6)驱动进行上下移动。

11. 根据权利要求10所述试剂盒的使用方法,其特征在于,所述纵向位移电机(6)的输出轴上设有螺杆(8),所述螺杆(8)上设有螺母(9),所述螺母(9)与所述转移枪(11)固定连接。

## 一种C反应蛋白磁微粒检测试剂盒及其使用方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及C反应蛋白检测技术领域,尤其涉及一种C反应蛋白检测试剂盒及其使用方法。

### 背景技术

[0002] C-反应蛋白(C-reactive protein,CRP)由肝细胞合成,在胎儿期产生,非母体胎盘传递。其产生机理是:当机体受感染或组织受损伤时巨噬细胞和其他白细胞等被激活,产生白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-1(IL-1)、肿瘤坏死因子TNF- $\alpha$ 等细胞因子及其他介导体,这些细胞因子和介导体到达肝脏,刺激肝细胞和上皮细胞合成CRP。在结构上,CRP含5个多肽链亚单位,非共价地结合为盘形多聚体,分子量为11.5万~14万,CRP是一种典型的急性时相蛋白。

[0003] 常规CRP测定包括定性、半定量和定量分析,可用于评价感染,组织损伤和炎症性疾病。对于常规的CRP测定,参考值通常被认为是临床上含量高于10mg/L。在健康人群血液中CRP水平低于5mg/L,而在各种条件下,急性炎症4~8小时内,CRP值达到约20至500mg/L。常规CRP作为急性炎症评估指标比红细胞沉降率(ESR)和白细胞计数更敏感、更可靠。

[0004] 超敏C反应蛋白常见的用途可作为心血管疾病风险识别的辅助手段。配合传统的急性冠脉综合征临床诊断使用,可作为冠状动脉疾病或急性冠脉综合征复发的预警指示物。

	常规 CRP	超敏 CRP
[0005] 用途	感染,组织损伤和炎症性疾病的评价。提供炎症性疾病的诊断,治疗和监控的信息	是区分低水平炎症状态的灵敏指标,血清hs-CRP水平与动脉粥样硬化及急性脑梗死(ACI)等心脑血管疾病的发生、严重程度及预后密切相关
[0006] 参考值范围	参考值范围:约 10mg/L 健康人群: $\leq$ 5mg/L 急性范围:20-500mg/L	参考值范围:1mg/L

[0007] 目前对C反应蛋白的免疫学检测,主要有免疫比浊法、免疫层析法、酶联免疫法和化学发光法等。

[0008] 其中罗氏和雅培,以及目前C反应蛋白检测市场占有率最高的芬兰Quikread,均采用免疫比浊法。

[0009] 免疫层析法分为胶体金法和荧光免疫层析,其中国内很多公司都采用了胶体金法,而荧光免疫层析则以韩国的i-chroma试剂为主,苏州光景生物和上海博阳生物则采用了时间分辨荧光免疫层析。

[0010] 酶联免疫法使用的厂家较少,如深圳海格德生物。

[0011] 化学发光免疫分析,是目前市场上免疫检测使用广泛、发展最为迅速的技术,它是用化学发光物质直接标记抗原或抗体,其发光强度与样本中的待测物浓度呈正相关。该方法灵敏度高、特异性好,根据其标记方法的不同,又可分为直接化学发光和酶促化学发光。深圳新产业检测C反应蛋白就采用了直接化学发光免疫分析法。

[0012] 胶体金法,是由胶体金颗粒在硝酸纤维素膜上聚集成肉眼可见的有色条带,而判别样本中待测物的浓度,该方法最为方便快捷,但是其敏度较低,特异性较差。

[0013] 荧光免疫层析,脱胎于胶体金法,把标记物从胶体金颗粒,替换为各种荧光纳米微球,借助仪器对荧光信号进行测定,然后计算出待测物的浓度。该方法由于是采用层析的反应模式,所以不同类型样本的层析形态和速度会对免疫反应产生影响,从而导致其重复性和特异性不能达到一个比较理想的水平。

[0014] 免疫比浊法,是通过对液体浊度的检测而反映出待测物的浓度,该方法同样受样本性状的影响,如高血脂等样本会影响结果的判断。

[0015] 化学发光法,以深圳新产业的产品为例,它采用的是直接化学发光免疫分析技术,发光标记物为异鲁米诺。该方法所用的试剂均为大包装,检测时由移液器加到反应管中反应,该方法具有灵敏度高、特异性好、检测范围宽的优点,但是由于其包装盒检测方式所限,其检测的灵活性较差,且试剂一旦开封,其保存稳定性就会受到周围环境的影响。

## 发明内容

[0016] 本发明为解决现有技术中的上述问题,提供一种可以定量检测全血、血清或血浆中C反应蛋白含量的检测试剂盒以及使用方法。

[0017] 本发明所提供的C反应蛋白检测试剂盒及其使用方法,采用化学发光免疫分析技术,提高了C反应蛋白检测的灵敏度、特异性和精密性,并使检测能够适用于更多样本类型,且能够最大限度地消除样本差异对检测的影响,另外通过对包装和检测方式进行设计,提高了检测的灵活性,并规避了试剂开封后需要稳定保存的问题。

[0018] 发明C反应蛋白检测试剂盒的原理:采用的是化学发光免疫分析技术,发光标记物为吖啶酯,而抗体包被载体为超顺磁微粒,免疫检测原理为双抗体夹心法。

[0019] 磁微粒是指可均匀分散于一定基液中的胶态复合材料,本发明所用的磁微粒内核为 $Fe_3O_4$ ,外壳为聚乙烯醇,表面修饰有链霉亲和素,直径为100nm,具有超顺磁性和极高的比表面积,且可以与生物素结合。

[0020] 吖啶酯在碱性 $H_2O_2$ 溶液中,分子受到过氧化氢离子进攻时,生成不稳定的二氧乙烷,此二氧乙烷分解为 $CO_2$ 和电子激发态的N-甲基吖啶酮,当其回到基态时发出最大发射波长为430nm的光子,该发光为闪光,会在约0.2-0.4s的很短时间内达到最大值,半衰期只有不到1s。

[0021] 基于上述背景,本发明C反应蛋白检测试剂盒的具体反应过程如下:首先是抗-CRP抗体包被的磁微粒与样本中的CRP特异性结合,然后该复合物与吖啶酯标记的抗-CRP抗体反应,形成抗-CRP抗体(a)磁微粒+CRP+吖啶酯标记抗-CRP抗体(b)复合物,然后把该复合物置于碱性 $H_2O_2$ 溶液中,吖啶酯发光,检测其发光信号,其信号强度与待测物浓度正相关。

[0022] 磁微粒由于其较大的比表面积,可以包被大量的抗-CRP抗体,且磁微粒可以均匀

分散在液体中,所以整个反应过程为准均相反应,其检测灵敏度和精密性能够得到保证,而且这种形式的反应速率较高,能够极大的缩短整个反应过程,更早得到检测结果。

[0023] 在检测CRP时,需要用稀释液对样本进行100倍稀释,而且每一步反应之后,都会对磁微粒进行清洗,从而提高了试剂的特异性,并消除了不同样本对检测造成的差异。

[0024] 不同于一般的化学发光试剂,在本发明中的C反应蛋白检测试剂盒中,检测需要的各个组分,都是按照单个测试的使用量,分装到特定的试剂条中,各个组分独立放置且用铝膜进行密封。每个试剂条可以单独随时进行测试,而且只有在上机开始测试时,才会开封,这样就消除了开封后保存可能对检测造成的影响。

[0025] 为实现上述目的,本发明采用以下技术方案:

[0026] 本发明的第一个方面是提供一种C反应蛋白检测试剂盒,包括由若干并排设置的孔位组成的试剂条,所述试剂条包含的试剂有CRP磁珠工作液、CRP吡啶酯标记工作液。

[0027] 进一步地,在所述C反应蛋白检测试剂盒上,所述CRP磁珠工作液是含有标记有抗-CRP抗体的磁性微球。

[0028] 进一步地,在所述C反应蛋白检测试剂盒上,所述CRP吡啶酯标记工作液是含有吡啶酯标记的抗-CRP抗体。

[0029] 进一步地,在所述C反应蛋白检测试剂盒上,所述试剂条上的一孔位内设有磁棒套。

[0030] 进一步优选地,在所述C反应蛋白检测试剂盒上,所述试剂盒还包括校准品、预激发液以及磁珠清洗液。

[0031] 更进一步地,在所述C反应蛋白检测试剂盒上,所述试剂条上的0号位设有磁棒套;1、2号位设有磁珠清洗液;3号位设有CRP磁珠工作液;6号位设有CRP吡啶酯标记工作液;7、8号位设有磁珠清洗液;10号位设有预激发液。

[0032] 本发明的第二个方面是提供了一种C反应蛋白检测试剂盒的制备方法。

[0033] 进一步地,提供了一种所述CRP磁珠工作液的制备方法,包括如下步骤:

[0034] 步骤1,生物素标记抗体

[0035] 抗体透析:取所需量的CRP磁珠包被抗体,用CRP透析液于4℃或室温透析不少于16-24h,期间换液不少于4次,透析液与原料的总透析体积比不低于250:1,收集透析完成的抗体保存于2-8℃待用,保存时间不超过7天;

[0036] 生物素溶解:用DMSO溶解生物素至浓度为1-5mg/mL;或者从-20℃取出用DMSO溶解好的生物素,解冻待用;

[0037] 生物素标记:把透析好的抗体用CRP透析液将抗体稀释到1.5mg/ml,按质量比CRP抗体:生物素=10:1。将生物素滴加到透析后的原料中,滴加时应慢慢晃动原料,再加入CRP透析液使抗体终浓度为1mg/mL,混匀5min。将混合液置于恒温培养箱25±1℃,静置反应120±10min;

[0038] 生物素标记纯化:使用CRP透析液于4℃或室温透析生物素化抗体16-24h,期间换液不少于4次,总透析体积比不低于250:1。计算抗体浓度和体积;

[0039] 步骤2,生物素化抗体包被磁珠

[0040] 磁珠前处理:把磁珠摇匀,容器底部沉淀全部混匀,然后吸取所需量的磁珠,用不低于磁珠2倍体积的CRP磁珠/吡啶值标记保存液清洗两遍,然后用CRP磁珠/吡啶值标记保

存液把磁珠复溶至不低于10mg/mL;

[0041] 磁珠包被:把磁珠和蛋白按照质量比40:1混合,磁珠终浓度不低于10mg/mL,磁珠置于恒温振荡箱 $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ ,100rpm/min摇匀反应 $120\pm 10\text{min}$ ;

[0042] 磁珠清洗:把反应后的磁珠取下,用不低于2倍反应体积的磁珠清洗液清洗4遍;

[0043] 磁珠保存:把清洗好的磁珠用CRP磁珠/吡啶值标记保存液复溶至10mg/mL,命名为CRP磁珠原液, $2-8^{\circ}\text{C}$ 保存待用;

[0044] 步骤3,用CRP保存液把包被好的磁珠稀释到600ug/mL,作为CRP磁珠工作液。

[0045] 进一步地,还提供了一种所述CRP吡啶酯标记工作液的制备方法,包括如下步骤:

[0046] 步骤1,CRP吡啶酯标记

[0047] 透析:取所需量的CRP标记抗体,用CRP透析液于 $4^{\circ}\text{C}$ 透析16-24h,期间换液不少于4次,总透析体积比不低于250,收集透析完成的抗体保存于 $2-8^{\circ}\text{C}$ 待用,保存时间不超过7天;

[0048] 吡啶酯稀释:从 $-20^{\circ}\text{C}$ 取出合适量的2.5mg/ml的吡啶酯(新到的固体吡啶酯使用DMF溶解到终浓度为2.5mg/mL,充分溶解后应为黄色透明的液体,配制后使用EP管分装,长期保存需要冻于 $-20^{\circ}\text{C}$ 冰箱,每支反复冻融不超过3次),使用CRP保存液稀释10倍至0.25mg/ml,配制后5min内用完(因光照会使吡啶酯降低性能);

[0049] 吡啶酯标记:把透析好的抗体用CRP透析液将抗体稀释到1.5mg/ml,按质量比CRP抗体:吡啶酯=10:1把抗体与吡啶酯快速混合,再加入CRP透析液使抗体终浓度为1mg/mL,混匀5min;将溶液置于恒温培养箱 $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ ,静置反应 $120\pm 10\text{min}$ ,反应全程需避光;

[0050] 纯化:使用G-25层析柱进行纯化,洗脱液为CRP标记洗脱液;纯化好的吡啶酯标记抗体用CRP磁珠/吡啶酯标记保存液稀释到不低于40ug/mL,命名CRP吡啶酯标记原液, $2-8^{\circ}\text{C}$ 保存待用;

[0051] 步骤2,将步骤310标记完成后的CRP吡啶酯标记原液用CRP保存液稀释到100ng/mL,作为反应工作液。

[0052] 本发明的第三个方面是提供一种所述试剂盒进行C反应蛋白检测时的使用方法,,检测时,所述试剂条置放于孵育仓内,所述孵育仓设置于输送带上,所述输送带连接水平位移电机,所述输送带的末端设有分析读数模块;并采用可相对磁棒套上下移动的上吸式磁珠转移枪实现所述试剂条上取磁棒套、吸取磁珠、磁珠洗脱、磁珠混匀、磁棒套打脱动作;

[0053] 所述上吸式磁珠转移枪,包括可与所述磁棒套过盈连接的提取枪枪头、位于所述提取枪枪头轴心线上用于吸附磁珠的磁棒,所述磁棒由提取电机驱动并相对所述提取枪枪头上下移动;

[0054] 包括如下使用步骤:

[0055] 步骤1,选择项目:根据样本选择CRP项目,把试剂条插入仪器反应通道中,点击开始;

[0056] 步骤2,扫码:仪器扫描试剂条封口铝膜表面的二维码,确认批号、校准曲线等信息是否与软件中的主曲线相匹配;

[0057] 步骤3,戳孔:试剂条运行到戳孔位,戳孔模块进行戳孔;

[0058] 步骤4,取磁棒套:试剂条运行到0号磁棒套位,通过转移枪取磁棒套;

[0059] 步骤5,加样:加样枪取到tip头,吸取20uL样本,加入到试剂条1号孔磁珠清洗液中;

[0060] 步骤6,样本稀释:加样枪以吸打的方式对样本进行第一步稀释,同样对2号孔中样本进行第二步稀释混匀后,吸取100uL稀释好的样本,加入到4号孔中;稀释完成后,加样枪把用过的tip头打入废tip头盒中统一收集;

[0061] 步骤7,磁珠提取:磁棒套加磁,提取3号孔中的磁珠;

[0062] 步骤8,第一步孵育:把磁珠提取至4号孔,进行第一步反应;

[0063] 步骤9,磁珠提取:第一步孵育完成后,磁棒套加磁,提取4号孔中的磁珠;

[0064] 步骤10,第二步孵育:把磁珠提取至6号标记工作液孔,进行第二步反应;

[0065] 步骤11,磁珠清洗:把磁珠依次提取至7、8号孔进行两次清洗;

[0066] 步骤12,检测:把磁珠提取至10号预激发液孔,试剂条运行至读数位,读数模块遮光罩落下,加200uL激发液至10号孔中,同时光电倍增管收集发光信号;

[0067] 步骤13,计算结果:软件根据每批试剂对应的校准曲线,把相对发光强度代入曲线中,计算出样板对应的浓度。

[0068] 进一步地,在所述试剂盒的使用方法中,所述提取电机安装于所述提取枪顶端,且所述提取电机通过电机轴与所述磁棒连接。

[0069] 进一步地,在所述试剂盒的使用方法中,所述提取枪枪头可与所述磁棒套的内壁或其外壁过盈连接。

[0070] 进一步地,在所述试剂盒的使用方法中,所述提取枪由设置于基板上的纵向位移电机驱动进行上下移动。

[0071] 进一步地,在所述试剂盒的使用方法中,所述纵向位移电机的输出轴上设有螺杆,所述螺杆上设有螺母,所述螺母与所述提取枪固定连接。

[0072] 本发明采用上述技术方案,与现有技术相比,具有如下技术效果:

[0073] 本发明提供的C反应蛋白检测试剂盒,C反应蛋白检测试剂盒的检测灵敏度、特异性、精密性、线性范围等性能均在一个比较高的水平,且能够检测不同的样本类型,满足了临床筛查的准确性和客户使用的便捷性;并使检测能够适用于更多样本类型,且能够最大限度地消除样本差异对检测的影响,另外通过对包装和检测方式进行设计,以提高检测的灵活性,并规避试剂开封后需要稳定保存的问题。

## 附图说明

[0074] 图1为本发明C反应蛋白检测试剂盒的结构示意图;

[0075] 图2为本发明上吸式磁珠转移枪的结构示意图;

[0076] 图3为本发明上吸式磁珠转移枪的截面结构示意图;

[0077] 图4为本发明上吸式磁珠转移枪在吸取磁珠时磁棒和磁棒套的位置状态图;

[0078] 图5为本发明上吸式磁珠转移枪在洗脱磁珠时磁棒和磁棒套的位置状态图;

[0079] 图6为本发明C反应蛋白检测试剂盒测定使用理论浓度与测定浓度的直线线性回归曲线;

[0080] 图7为本发明全血与血浆检测对比的线性曲线;

[0081] 图8为本发明血浆与血清检测对比的线性曲线;

[0082] 其中,各附图标记为:

[0083] 1-水平位移电机,2-输送带,3-孵育仓,4-试剂条,5-磁棒套,6-纵向位移电机,7-

基板,8-螺杆,9-螺母,10-提取电机,11-转移枪,12-提取枪枪头,13-分析读数模块,14-电机轴,15-磁棒,16-磁珠。

### 具体实施方式

[0084] 下面通过具体实施例对本发明进行详细和具体的介绍,以使更好的理解本发明,但是下述实施例并不限制本发明范围。

#### [0085] 实施例1

[0086] 如图1所示,本实施例提供了一种C反应蛋白检测试剂盒,包括由若干并排设置的孔位组成的试剂条,所述试剂条包含的试剂有CRP磁珠工作液、CRP吡啶酯标记工作液。试剂盒还包含样本稀释液、校准品、磁珠清洗液以及预激发液。相应的试剂采用热封膜技术分别密封储存于试剂条上相应的孔位内,有效防止了试剂串孔,解决了运输问题。

[0087] 本实施例的C反应蛋白检测试剂盒上,试剂条上的一孔位内设有用于与专用上吸式磁珠转移枪配套使用的磁棒套,在于采用该试剂盒进行C反应蛋白检测时,用上吸式磁珠转移枪转移磁珠技术,将磁棒深入到液体内部快速提取磁珠;该试剂盒上的磁棒套采用一次性磁棒套,防止磁珠污染磁棒,同时使得磁珠洗脱变得容易。

[0088] 本实施例的C反应蛋白检测试剂盒的试剂条上的0号位设有磁棒套;1、2、7、8号位设有磁珠清洗液;3号位设有CRP磁珠工作液;6号位设有CRP吡啶酯标记工作液;10号位设有预激发液,其余为空白,且该组装各试剂后的试剂条采用铝膜热封。

#### [0089] 实施例2

[0090] 本实施例提供了一种C反应蛋白检测试剂盒(磁微粒化学发光法)的制备方法,具体包括如下步骤:

[0091] 一、本实施例中所采用的仪器、原料、试剂的选择:

[0092] (一)本实例中所用仪器及来源:

[0093]

仪器名称	生产厂家
TDL-60B低速台式离心机	
海尔冰箱	海尔
海尔冰箱	海尔
六工位磁力搅拌器	
六工位磁力搅拌器	
MX-S可调式混匀仪	
MX-S可调式混匀仪	
THZ-D台式恒温振荡器	
电脑紫外检测仪	
TDL-60B低速台式离心机	
SW-TFG-15通风柜	
HD-5电脑紫外检测仪	
HL-2恒流泵	
HPS-250生化培养箱	

试剂条分装设备	广州安亦捷
---------	-------

[0094] (二) 实例中所用原料、试剂及其来源:

[0095]	试剂及原料	生产厂家
	CRP 包被抗体	北京博生福
	CRP 标记抗体	北京博生福
	CRP 重组抗原	北京博生福
	磁珠	Chemagen
	吡啶酯	上海易隐
	生物素	Thermofisher
	Tris	Roche
	盐酸(GR)	国药集团
	氯化钠(GR)	国药集团
	磷酸氢二钠	国药集团
	磷酸二氢钠	国药集团

[0096]	酪蛋白	Sigma
	BSA	more gate
	Tween-20	上海生工
	Brij35	上海生工
	TritonX-100	上海生工
	氢氧化钠	国药集团
	浓硝酸	国药集团
	30%双氧水	国药集团
	海藻糖	南宁杰沃利
	叠氮钠	Sigma S2002
	试剂条	厦门云鹏
	磁棒套	厦门云鹏
	封口铝膜	深圳励盟

[0097] 二、制备方法:

[0098] (一) 所需溶液总览:

溶液编号	溶液名称	用途
D-001	CRP 样本稀释液	校准品配制, 质控品配制
D-002	CRP 透析液	包被、标记抗体前处理
		生物素标记包被抗体缓冲液
		生物素标记后纯化缓冲液
		吖啶酯标记抗体缓冲液
D-003	CRP 磁珠/吖啶酯标记保存液	磁珠与生物素化抗体反应缓冲液
		抗体包被好磁珠后的保存液 (浓液&工作液)
		吖啶酯标记抗体后的保存液 (浓液&工作液)
D-004	CRP 标记洗脱液	吖啶酯标记抗体纯化缓冲液
D-005	预激发液	吖啶酯发光的前置条件
D-006	激发液	吖啶酯直接发光
D-007	磁珠清洗液	磁珠包被过程中清洗, 反应过程中清洗

## [0100] (二) 溶液配方

## [0101] 1) D-001CRP样本稀释液

[0102]

品名	用量/L
Tris	6.06g
HCl	3.8mL
氯化钠	9.0g
BSA	30g
酪蛋白钠盐	5g
海藻糖	20g
20%NaN <sub>3</sub>	5ml

## [0103] 2) D-002CRP透析液

[0104]

品名	用量/L
磷酸二氢钠	0.78g
磷酸氢二钠	34.01g
氯化钠	9g

## [0105] 3) D-003CRP保存液

[0106]

品名	用量
Tris	6.06g
HCl	3.8mL
氯化钠	9g
Tween-20	0.5mL
BSA	20g
20%NaN <sub>3</sub>	5ml

## [0107] 4) D-004CRP标记洗脱液

[0108]

品名	用量/L
Tris	6.06g
HCl	3.8mL
氯化钠	9g
20%NaN <sub>3</sub>	5ml

[0109] 5) D-005预激发液

[0110]

品名	用量/L
30%双氧水	44mL
浓硝酸	0.55mL
TritonX-100	0.2mL

[0111] 6) D-006激发液

[0112]

品名	用量/L
NaOH	14g
TritonX-100	15mL

[0113] 7) D-007磁珠清洗液

[0114]

品名	用量/L
Tris	1.212g
NaCl	9g
HCl	0.38mL
Tween-20	0.2mL
Brij-35	0.5g

[0115]

20% NaN <sub>3</sub>	5mL
----------------------	-----

[0116] (三)、CRP磁珠工作液的制备

[0117] 步骤1,生物素标记抗体

[0118] 抗体透析:取所需量的CRP磁珠包被抗体,用CRP透析液于4℃或室温透析不少于16-24h,期间换液不少于4次,透析液与原料的总透析体积比不低于250:1,收集透析完成的抗体保存于2-8℃待用,保存时间不超过7天;

[0119] 生物素溶解:用DMSO溶解生物素至浓度为1-5mg/mL;或者从-20℃取出用DMSO溶解好的生物素,解冻待用;

[0120] 生物素标记:把透析好的抗体用CRP透析液将抗体稀释到1.5mg/ml,按质量比CRP抗体:生物素=10:1,将生物素滴加到透析后的原料中,滴加时应慢慢晃动原料,再加入CRP透析液使抗体终浓度为1mg/mL,混匀5min。将混合液置于恒温培养箱25±1℃,静置反应120±10min;

[0121] 生物素标记纯化:使用CRP透析液于4℃或室温透析生物素化抗体16-24h,期间换

液不少于4次,总透析体积比不低于250:1,计算抗体浓度和体积;

[0122] 步骤12,生物素化抗体包被磁珠

[0123] 磁珠前处理:把磁珠摇匀,容器底部沉淀全部混匀,然后吸取所需量的磁珠,用不低于磁珠2倍体积的CRP磁珠/吡啶值标记保存液清洗两遍,然后用CRP磁珠/吡啶值标记保存液把磁珠复溶至不低于10mg/mL;

[0124] 磁珠包被:把磁珠和蛋白按照质量比40:1混合,磁珠终浓度不低于10mg/mL,磁珠置于恒温振荡箱 $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ ,100rpm/min摇匀反应 $120\pm 10\text{min}$ ;

[0125] 磁珠清洗:把反应后的磁珠取下,用不低于2倍反应体积的磁珠清洗液清洗4遍;

[0126] 磁珠保存:把清洗好的磁珠用CRP磁珠/吡啶值标记保存液复溶至10mg/mL,命名为CRP磁珠原液, $2-8^{\circ}\text{C}$ 保存待用;

[0127] 步骤13,用CRP保存液把包被好的磁珠稀释到600ug/mL,作为CRP磁珠工作液。

[0128] (四)、CRP吡啶酯标记工作液的制备

[0129] 步骤1,CRP吡啶酯标记

[0130] 透析:取所需量的CRP标记抗体,用CRP透析液于 $4^{\circ}\text{C}$ 透析16-24h,期间换液不少于4次,总透析体积比不低于250,收集透析完成的抗体保存于 $2-8^{\circ}\text{C}$ 待用,保存时间不超过7天;

[0131] 吡啶酯稀释:从 $-20^{\circ}\text{C}$ 取出合适量的2.5mg/ml的吡啶酯(新到的固体吡啶酯使用DMF溶解到终浓度为2.5mg/mL,充分溶解后应为黄色透明的液体,配制后使用EP管分装,长期保存需要冻于 $-20^{\circ}\text{C}$ 冰箱,每支反复冻融不超过3次),使用CRP保存液稀释10倍至0.25mg/ml,配制后5min内用完(因光照会使吡啶酯降低性能);

[0132] 吡啶酯标记:把透析好的抗体用CRP透析液将抗体稀释到1.5mg/ml,按质量比CRP抗体:吡啶酯=10:1把抗体与吡啶酯快速混合,再加入CRP透析液使抗体终浓度为1mg/mL,混匀5min;将溶液置于恒温培养箱 $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ ,静置反应 $120\pm 10\text{min}$ ,反应全程需避光;

[0133] 纯化:使用G-25层析柱进行纯化,洗脱液为CRP标记洗脱液;纯化好的吡啶酯标记抗体用CRP磁珠/吡啶酯标记保存液稀释到不低于40ug/mL,命名CRP吡啶酯标记原液, $2-8^{\circ}\text{C}$ 保存待用; ,

[0134] 步骤2,将步骤310标记完成后的CRP吡啶酯标记原液用CRP保存液稀释到100ng/mL,作为反应工作液。

[0135] (五)、校准品的制备

[0136] 步骤1,投料:称取一定量的样本稀释液,加入CRP抗原制备校准品A和B,投料量分别是0.01mg/L和1.0mg/mL,混合均匀后待测定;

[0137] 步骤2,确定浓度:用企标做校准曲线,检测配制好的A、B校准品浓度,,作为标准品的初测浓度;

[0138] 步骤3,分装:把校准品A和B分装到3mL玻璃瓶中,规格为0.75mL/瓶;

[0139] 步骤4,冻干:冻干曲线,有糖第五组曲线;

[0140] 步骤5,定标:冻干后的校准品用纯化水复溶后,用企标对浓度进行定值。需要选用不低于3台STBS仪器进行检测,每台仪器分不同时间各检测两次,取几次检测的平均浓度,作为校准品的标定浓度。

[0141] (六)、试剂条分装

[0142] 把以上制备完成的各组分,按照以下表格的顺序和用量进行单人份分装:

[0143]	组份	详细内容	液量	
[0144]	试剂条	0号孔	磁棒套	\
		1号孔	磁珠清洗液	400uL
		2号孔	磁珠清洗液	400uL
		3号孔	CRP 磁珠工作液	400uL
		4号孔	空	空
		5号孔	空	空
		6号孔	CRP 吡啶酯标记工作液	100uL
		7号孔	磁珠清洗液	400uL
		8号孔	磁珠清洗液	400uL
		9号孔	空	空
		10号孔	预激发液	100uL

[0145] 分装完成后,把试剂条用铝膜热封,则试剂条制备完成。

[0146] 实施例3

[0147] 本实施例提供一种采用所述试剂盒进行C反应蛋白检测的使用方法,检测时,试剂条4置放于孵育仓3内述孵育仓3设置于输送带2上,输送带2连接水平位移电机1,输送带2的末端设有分析读数模块13,并采用可相对磁棒套5上下移动的上吸式磁珠转移枪实现所述试剂条上取磁棒套、吸取磁珠、磁珠洗脱、磁珠混匀、磁棒套打脱动作;具体包括如下步骤:

[0148] 步骤1,选择项目:根据样本选择CRP项目,把试剂条插入仪器反应通道中,点击开始;

[0149] 步骤2,扫码:仪器扫描试剂条封口铝膜表面的二维码,确认批号、校准曲线等信息是否与软件中的主曲线相匹配;

[0150] 步骤3,戳孔:试剂条运行到戳孔位,戳孔模块进行戳孔;

[0151] 步骤4,取磁棒套:试剂条运行到0号磁棒套位,仪器取磁棒套5;

[0152] 步骤5,加样:加样枪取到tip头,吸取20uL样本,加入到试剂条1号孔稀释液中;

[0153] 步骤6,样本稀释:加样枪以吸打的方式对样本进行第一步稀释,同样对2号孔中样本进行第二步稀释混匀后,吸取100uL稀释好的样本,加入到4号孔中;

[0154] 稀释完成后,加样枪把用过的tip头打入废tip头盒中统一收集;

[0155] 步骤7,磁珠提取:磁棒套加磁,提取3号孔中的磁珠;

[0156] 步骤8,第一步孵育:把磁珠提取至4号孔,进行第一步反应;

[0157] 步骤9,磁珠提取:第一步孵育完成后,磁棒套加磁,提取4号孔中的磁珠;

[0158] 步骤10,第二步孵育:把磁珠提取至6号标记工作液孔,进行第二步反应;

[0159] 步骤11,磁珠清洗:把磁珠依次提取至7、8号孔进行两次清洗;

[0160] 步骤12,检测:把磁珠提取至10号预激发液孔,试剂条运行至读数位,读数模块遮光罩落下,加200uL激发液至10号孔中,同时光电倍增管收集发光信号;

[0161] 步骤13,计算结果:软件根据每批试剂对应的校准曲线,把相对发光强度代入曲线中,计算出样板对应的浓度。

[0162] 实施例4

[0163] 如图2所示,本实施例提供一种C反应蛋白检测试剂盒检测分析用的上吸式磁珠转

移枪,包括可与所述磁棒套5过盈连接的提取枪枪头12、位于所述提取枪枪头12轴心线上用于吸附磁珠16的磁棒15,采用本实施例的上吸式磁珠转移枪进行磁珠转移时,通过提取枪枪头12提取磁棒套5,然后通过磁棒15的相对位移使得磁棒套5带磁性或失去磁性,继而通过磁棒套5吸附磁珠16进行转移。

[0164] 如图3所示,提取电机10安装于转移枪11顶端,且提取电机10通过电机轴14与磁棒15连接,磁棒15装设在电机轴14的下端,通过提取电机10控制电机轴14的上下移动,继而带动其下端的磁棒15上下移动,远离或靠近磁棒套5的底部,使得磁棒套5的底部带磁性或失去磁性,用于磁珠16的转移。

[0165] 在本实施例的上吸式磁珠转移枪上,提取枪枪头12可与磁棒套5的内壁或其外壁过盈连接。具体地,提取枪枪头12随转移枪11整体向下移动,提取枪枪头12呈筒状,可设计提取枪枪头12的内径略小于磁棒套5的外径,使提取枪枪头12过盈包紧在磁棒套5的外壁上,在包紧过程中,由于受提取枪枪头12向下的力作用,磁棒套5发生一定的形变;或设计提取枪枪头12的外径略大于磁棒套5的内径,使提取枪枪头12过盈紧贴在磁棒套5的内壁上,在贴合的过程中,由于受提取枪枪头12向下的力作用,磁棒套5在挤压过程中发生一定的形变。

[0166] 如图2所示,在孵育仓3设置于输送带2上,输送带2连接水平位移电机1,由水平位移电机1驱动输送带2运行,继而带动其上的孵育仓3移动至相应位置,输送带2的末端还设有用于对磁珠混均后的试剂进行检测分析的分析读数模块13。

[0167] 请继续参阅如图2所示的上吸式磁珠转移枪,转移枪11由设置于基板7上的纵向位移电机6驱动进行上下移动,基板7固定在输送带2上方位置,纵向位移电机6固定安装在基板7,并与转移枪11连接,用于驱动转移枪11整体进行上下移动。优选地,纵向位移电机6的输出轴上设有螺杆8,螺杆8上设有螺母9,螺母9与转移枪11固定连接,即纵向位移电机6通过螺杆8带动螺杆8上的转移枪11进行上下移动。

[0168] 实施例5

[0169] 本实施例提供了一种采用上吸式磁珠转移枪对试剂盒内的磁珠进行转移的操作方法,具体包括如下步骤:

[0170] 步骤1:取磁棒套

[0171] 将磁棒套5移动到转移枪11的正下方,使转移枪11向下运动,12提取枪枪头探入5磁棒套内;在转移枪11的挤压下,磁棒套5与提取枪枪头12过盈连接在一起;再使11提取枪向上移动,同时提取枪枪头12带着磁棒套5向上移动,取出磁棒套5;

[0172] 步骤2:吸取磁珠

[0173] 取好磁棒套5后,将试剂条4上的将要吸取磁珠的小孔移动到转移枪11的正下方,由提取电机10带动磁棒15向下移动到磁棒套5的底部,使磁棒套5的底部带有磁性;然后使转移枪11向下移动,将磁棒套5的底部探入到含有磁珠16的液体中,再使转移枪11上下缓慢移动,磁棒15会将磁珠吸到磁棒套5的底部;最后,使转移枪11向上移动,同时提取枪枪头12带着磁棒套5向上移动,磁珠16也随磁棒套5移出至液体外;吸取磁珠时,磁棒15和磁棒套5的位置状态如图4所示:

[0174] 步骤4:洗脱磁珠

[0175] 吸取磁珠16后,将试剂条4上的将要接受磁珠16的小孔移动到转移枪11的正下方,

使转移枪11向下移动,将吸附有磁珠16的磁棒套5深入到要接受磁珠16的液体中,由提取电机10驱动磁棒15向上移动,使磁棒套5的底部失去磁性;然后使转移枪11上下小幅度较快速运动,将磁珠16洗脱到液体中;洗脱磁珠时,磁棒15和磁棒套5的位置状态如图5所示:

[0176] 步骤4:磁珠混匀

[0177] 洗脱磁珠16后,将试剂条4上的将要混匀磁珠16的小孔运行到转移枪11的正下方,该将要混匀磁珠16的小孔是指孵育过程中的小孔,在磁棒套5底部无磁性的状态下,使转移枪11向下运动,将磁棒套5的底部深入到将要混匀磁珠16的液体中,使转移枪11上下小幅度较快速运动,将液体中的磁珠16混匀保持悬浮状态;

[0178] 步骤5:磁棒套打脱

[0179] 当不再需要磁棒套5时,将试剂条4上的磁棒套放置孔移动到转移枪11的正下方,由提取电机10驱动磁棒15向下运动,直到将磁棒套5从提取枪枪头12上顶脱,使得磁棒套5掉落到试剂条4上的磁棒套放置孔内。

[0180] 在本实施例试剂盒的磁珠转移方法中,步骤4磁珠混匀时,磁棒15和磁棒套5的位置状态为磁棒15的下端远离磁棒套5的底部,使磁棒套5底部失去磁性,即同步骤3洗脱磁珠时磁棒15和磁棒套5的位置状态相同。

[0181] 实施例6性能检测

[0182] 1、检测灵敏度

[0183] 1.1、空白检测限

[0184] 方法:空白检测限,即LOB(limit of blank),是指空白样本中可能检测到的最高结果。把空白样本连续检测3天,每天检测20个,共60个空白样本数据,用WHO校准品做校准曲线计算浓度,按照从小到大排列,选择第95百分位数就是空白检测限。

[0185] 检测数据:

[0186] 表1空白样本检测 (RLU)

	401	744	464	371	391	460	691	468	574	435
	507	420	755	570	407	434	402	636	434	815
[0187]	228	215	231	275	200	232	249	276	270	266
	382	691	463	398	478	691	422	501	407	437
	489	304	399	506	702	434	305	408	577	689
	267	199	376	259	240	216	310	238	277	249

[0188] 表2空白样本检测-计算浓度并从小到大排序

[0189]	1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
[0190]	3	0.00	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
	4	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
	5	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.02	0.02
	6	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.03	0.03

[0191] 结果分析:选择第95百分位数 $=60 \times 95\% = 57$ ,第57位数的结果为0.02mg/L,则LOB不高于0.05mg/L。

[0192] 1.2、分析灵敏度

[0193] 检测高于LOB的低浓度样本

[0194]	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
	0.046	0.056	0.05	0.049	0.044	0.048	0.056	0.045	0.058	0.051	0.044	0.054	0.042
	mean	0.049	sd	0.005									

[0195]	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
	0.037	0.027	0.031	0.032	0.035	0.035	0.039	0.031	0.03	0.035	0.036	0.028	0.024
	mean	0.032	sd	0.004									

[0196]	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
	0.02	0.018	0.024	0.015	0.018	0.014	0.016	0.018	0.023	0.024	0.023	0.025	0.024
	mean	0.02	sd	0.004									

[0197] 结果分析:两个低浓度样本的SD均小于0.008,

[0198]  $LOD = LOB + 1.645 * SD = 0.02 + 1.645 * 0.008 = 0.03 \text{mg/L}$ 。

[0199] 1.3、功能灵敏度

[0200] 方法:选择低于参考值范围(1mg/L)的样本,浓度值约为0.6mg/L,用样本稀释液稀释浓度梯度,分别检测不同浓度梯度的变异系数,一般认为CV刚好超过10%的浓度值为功能灵敏度。

[0201] 表3功能灵敏度

	L		1/2L		1/4L		1/8L		
	发光值	浓度值	发光值	浓度值	发光值	浓度值	发光值	浓度值	
[0202]	1	9991	0.65	5340	0.34	2766	0.17	1486	0.09
	2	10487	0.68	5661	0.36	2865	0.18	1558	0.09
	3	10762	0.7	5542	0.36	2804	0.18	1486	0.09
	4	10935	0.71	5648	0.36	2899	0.18	1558	0.09
	5	10481	0.68	5136	0.33	2775	0.17	1429	0.09
[0203]	6	10227	0.66	5415	0.35	2861	0.18	1444	0.08
	7	9897	0.64	5402	0.35	2680	0.17	1493	0.09
	8	10033	0.65	5308	0.34	2738	0.17	1412	0.08
	9	10378	0.67	5434	0.35	2750	0.17	1425	0.08
	10	9832	0.64	5296	0.34	2703	0.17	1423	0.08
	CV	3.61%	3.65%	3.02%	2.97%	2.60%	2.97%	3.69%	6.00%

[0204] 结果分析:可以看出,直到稀释浓度为0.09mg/L时,CV仍然小于10%,所以认为功能灵敏度为不高于0.2mg/L。

[0205] 2、检测精密性

[0206] 方法:低、中浓度样本CV1和CV2,对其进行检测,每支重复10次,计算变异系数

[0207] 检测数据:

[0208] 表4精密性检测

	CV1		CV2	
	发光值	浓度值	发光值	浓度值
1	10733	0.49	189627	11.15
2	10772	0.49	187975	11.05
3	11450	0.53	194961	11.45
4	10836	0.50	180913	10.66
5	11025	0.51	192669	11.32
[0209] 6	11053	0.51	186217	10.95
7	11062	0.51	195061	11.45
8	10984	0.50	190964	11.22
9	10828	0.50	193813	11.38
10	10243	0.47	181230	10.67
11	11254	0.52	192548	11.31
12	10365	0.47	183987	10.83
Mean	10883	0.50	189163	11.12
STD	339.57	0.02	5091.09	0.29
CV	3.12%	3.42%	2.69%	2.58%

[0210] 可以看出,本试剂盒的检测精密性可以控制在5%以内。

[0211] 3、线性范围

[0212] 方法:使用阴性人血清梯度稀释已定值的高浓度样本,用CRP试剂检测稀释样本;使用理论浓度与测定浓度做直线线性回归

[0213] 检测数据:

[0214] 表5线性范围

稀释比%	测试 1 (mg/L)	测试 2 (mg/L)	平均测定浓度 (mg/L)	理论浓度 (mg/L)
100%	238.02	235.1	236.56	237
80%	188.52	183.74	186.13	189.6
40%	95.41	96.93	96.17	94.8
20%	48.03	47.55	47.79	47.4
10%	22.91	24.49	23.7	23.7
[0215] 2.5%	6.04	5.86	5.95	5.9
1.25%	2.86	3.26	3.06	3.0
0.625%	1.62	1.5	1.56	1.5
0.3125%	0.81	0.77	0.79	0.7
0.1563%	0.4	0.42	0.41	0.4
0.0781%	0.21	0.23	0.22	0.2
斜率	1.0058			
相关系数	0.999			

[0216] 线性范围测定如图6所示。

[0217] 可以看出,在0.22-237mg/L范围内,斜率为1.0058,测试值与理论值相关系数r为0.999,说明本试剂盒线性范围能够覆盖超敏CRP和常规CRP。

[0218] 4、检测样本类型

[0219] 收集100例样本,每一份样本均分为全血、血浆和血清三份,同时进行检测,计算不同样本类型之间的检测差异,全血与血浆检测对比如图7所示,血浆与血清检测对比如图8所示。

[0220] 由图7-8所示,可以看出,同一份样本,其全血、血浆或者血清的检测结果之间没有差异,说明本试剂盒对于多种样本类型的适用性。

[0221] 5、检测样本干扰

[0222] 选用几种常用的干扰物质:胆红素、血红蛋白、甘油三酯、类风湿因子,用于黄疸、溶血、高血脂等可能对检测造成影响的样本类型。选择四份血清样本(阴性,弱阳,中阳,强阳),每份样本分成4份,其中3份分别加入相应干扰物质,使其终浓度如下表,另一份加入相应体积稀释液作对照。

[0223] 表6添加干扰物质影响

干扰物质	血样	对照值	均值	干扰值	均值	干扰值/ 对照值
[0224]						

[0225]	胆红素 (100mg/dL)	阴性	0.02	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	
		L	0.44	0.46	0.45	0.44	0.45	0.45	98.98%
		M	4.55	4.46	4.51	4.73	4.87	4.80	106.50%
		H	26.74	26.35	26.54	27.23	28.13	27.68	104.28%
	血红蛋白 (2000 mg/dL)	阴性	0.02	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	
		L	0.44	0.46	0.45	0.42	0.42	0.42	93.75%
		M	4.55	4.46	4.51	4.26	4.42	4.34	96.30%
	甘油三脂 (2000 mg/dL)	H	26.74	26.35	26.54	25.03	26.89	25.96	97.80%
		阴性	0.02	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	
		L	0.44	0.46	0.45	0.44	0.44	0.44	97.89%
		M	4.55	4.46	4.51	4.58	4.38	4.48	99.46%
	类风湿因子 (100IU/mL)	H	26.74	26.35	26.54	27.30	26.41	26.85	101.17%
阴性		0.02	0.00	0.01	0.01	0.01	0.01		
L		0.44	0.46	0.45	0.44	0.42	0.43	95.60%	
M		4.55	4.46	4.51	4.72	4.65	4.69	103.99%	
		H	26.74	26.35	26.54	27.25	26.30	26.78	100.87%

[0226] 结果分析:添加上述干扰物质后样本测值与未添加的样本相比,测值偏差在10%之内,因此本试剂检测结果不受高水平的黄疸(胆红素 $\leq$ 100mg/dL)、溶血(血红蛋白 $\leq$ 2000mg/dL)、高血脂(甘油三脂 $\leq$ 2000mg/dL)和类风湿因子(100IU/mL)的影响。

[0227] 以上数据可以看出,本发明C反应蛋白检测试剂盒的检测灵敏度、特异性、精密性、线性范围等性能均在一个比较高的水平,且能够检测不同的样本类型,满足了临床筛查的准确性和客户使用的便捷性。

[0228] 以上对本发明的具体实施例进行了详细描述,但其只是作为范例,本发明并不限制于以上描述的具体实施例。对于本领域技术人员而言,任何对本发明进行的等同修改和替代也都在本发明的范畴之中。因此,在不脱离本发明的精神和范围下所作的均等变换和修改,都应涵盖在本发明的范围内。

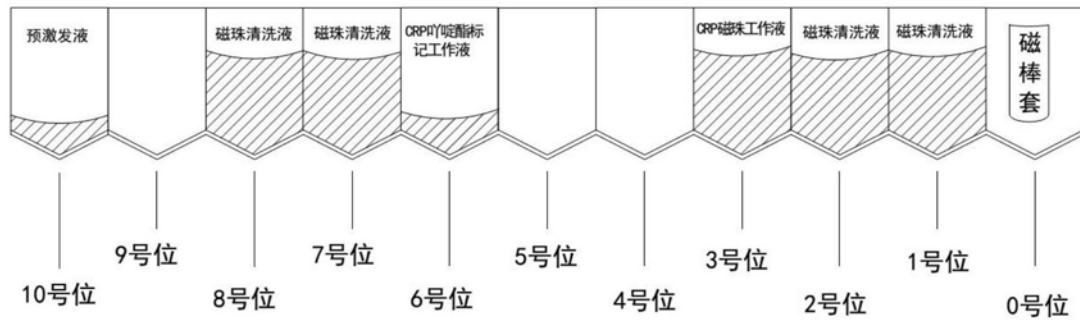


图1

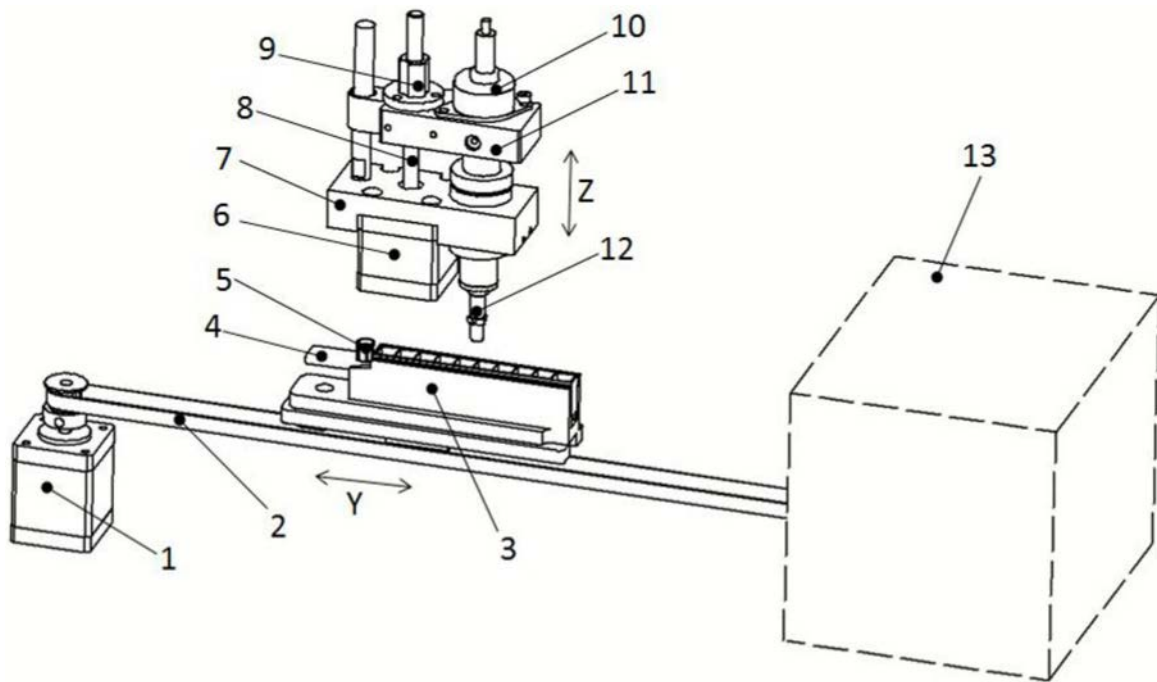


图2

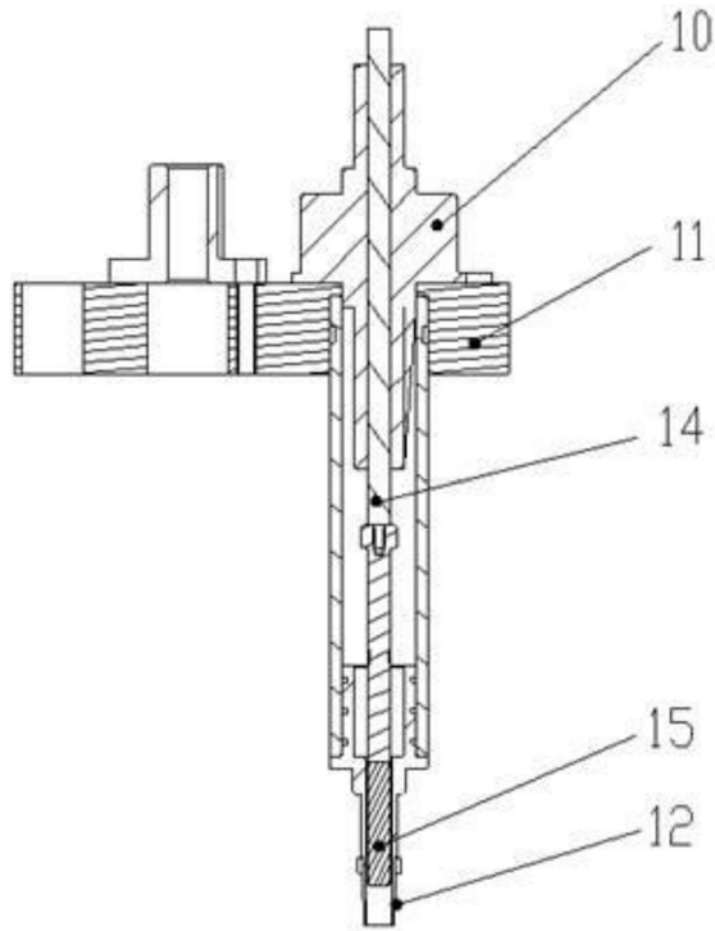


图3

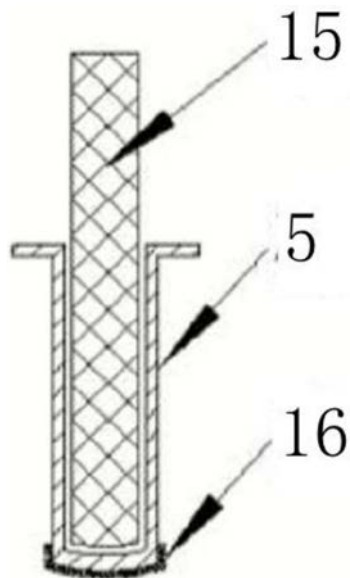


图4

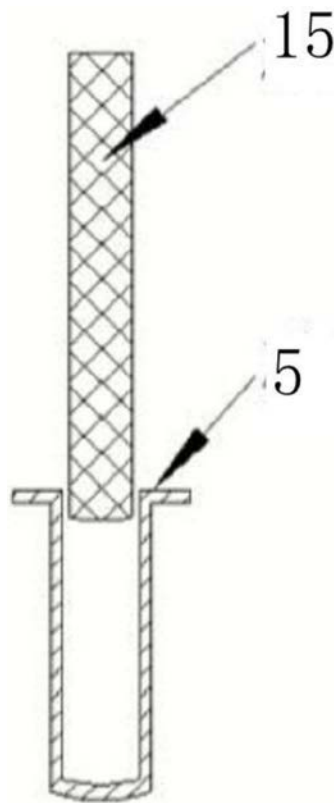


图5

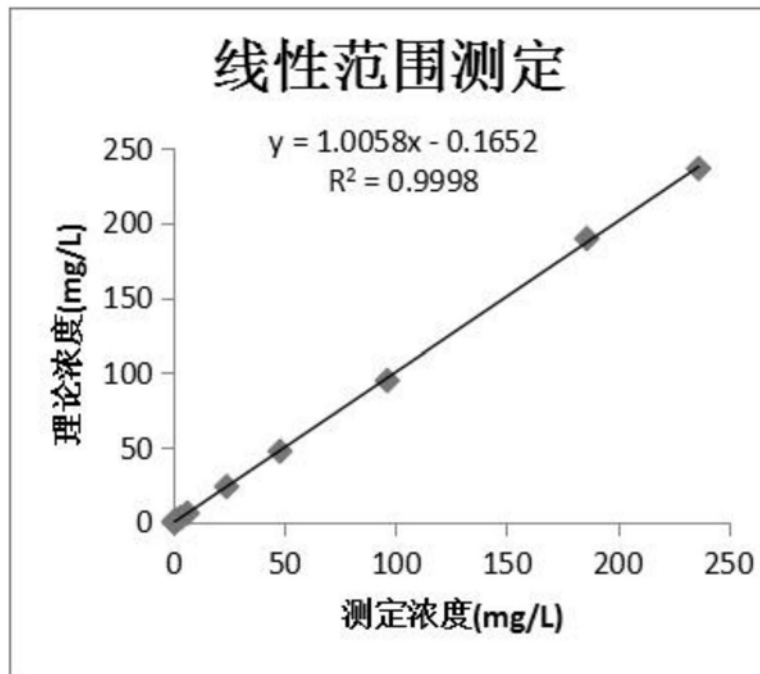


图6

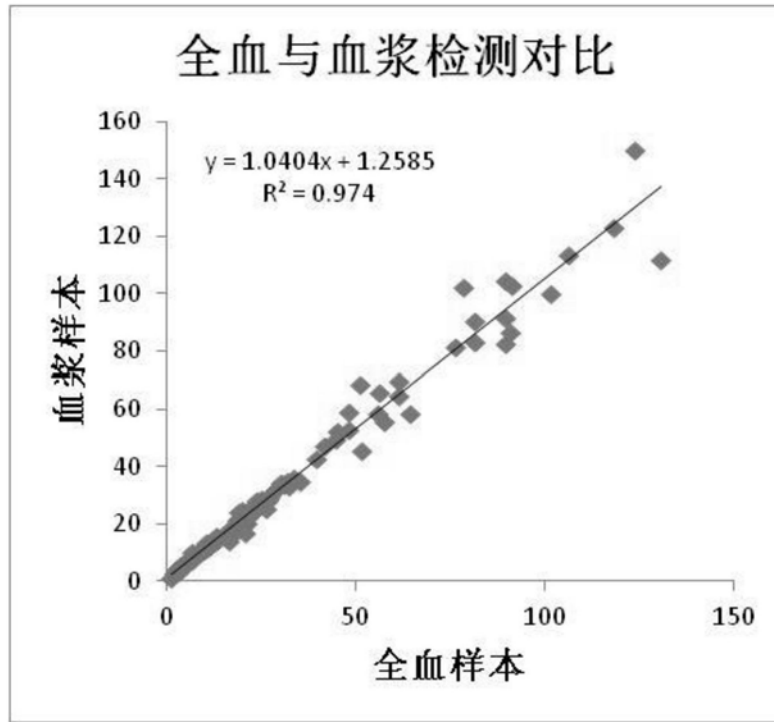


图7

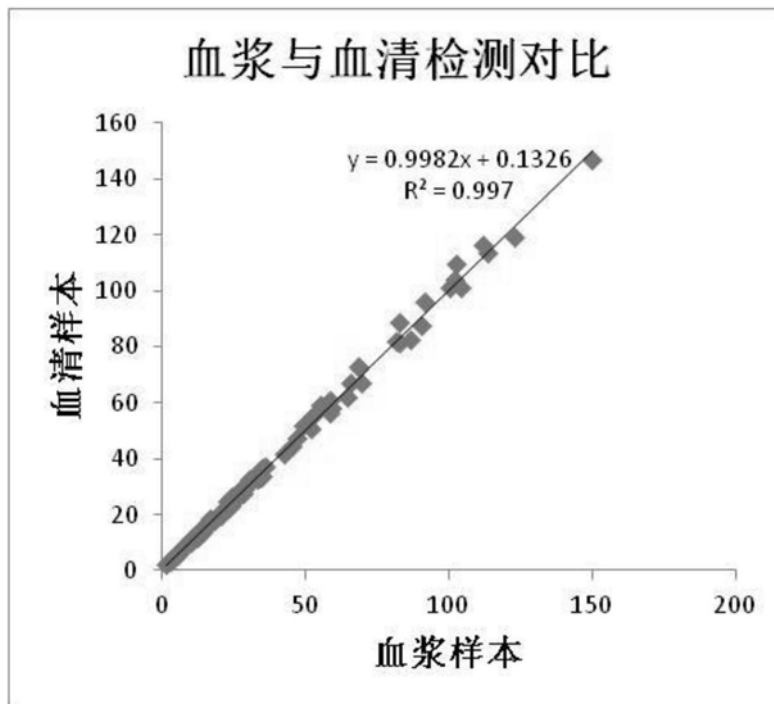


图8

专利名称(译)	一种C反应蛋白磁微粒检测试剂盒及其使用方法		
公开(公告)号	<a href="#">CN107656043A</a>	公开(公告)日	2018-02-02
申请号	CN2017110861832.6	申请日	2017-09-21
[标]申请(专利权)人(译)	苏州新波生物技术有限公司		
申请(专利权)人(译)	苏州新波生物技术有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	苏州新波生物技术有限公司		
[标]发明人	郝亚澎 胡星海		
发明人	郝亚澎 胡星海		
IPC分类号	G01N33/53 G01N21/76		
CPC分类号	G01N33/53 G01N21/76		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本发明公开了一种C反应蛋白检测试剂盒及其使用方法，该试剂盒包括由若干并排设置的孔位组成的试剂条，试剂条包含的试剂有CRP磁珠工作液、CRP吡啶酯标记工作液；该试剂盒还包括校准品、预激发液、激发液以及磁珠清洗液，且在试剂条上的一孔位内设有磁棒套。本发明提供的C反应蛋白检测试剂盒及其使用方法基于化学发光免疫分析技术，提高了C反应蛋白检测的灵敏度、特异性和精密性，并使检测能够适用于更多样本类型，且能够最大限度地消除样本差异对检测的影响。

