



(12)发明专利申请



(10)申请公布号 CN 110672850 A

(43)申请公布日 2020.01.10

(21)申请号 201911056657.9

(22)申请日 2019.10.31

(71)申请人 迪瑞医疗科技股份有限公司

地址 130103 吉林省长春市高新区宜居路
3333号

(72)发明人 胡雪淞

(74)专利代理机构 长春众邦菁华知识产权代理
有限公司 22214

代理人 于晓庆

(51)Int.Cl.

G01N 33/577(2006.01)

G01N 33/569(2006.01)

G01N 33/543(2006.01)

G01N 33/532(2006.01)

权利要求书2页 说明书8页

(54)发明名称

甲型肝炎病毒抗体IgM检测试剂盒及其制备方法

(57)摘要

甲型肝炎病毒抗体IgM检测试剂盒及其制备方法,属于化学发光体外诊断领域,用于体外检测人血清、血浆中甲型肝炎病毒抗体IgM的含量。该试剂盒包括校准品;质控品;抗人IgM单克隆抗体包被的磁微粒混悬液;化学发光标记物标记的HAV抗体;游离HAV抗原。使用抗人IgM单克隆抗体包被的磁微粒混悬液-样本中HAV IgM抗体-游离HAV抗原-化学发光标记物标记的HAV抗体体系,能特异性识别样本中的HAV IgM抗体,避免非特异性结合造成假阳性结果,操作简单、定量检测准确快速。采用吖啶酯直接发光,降低了本底空白,灵敏度高。以顺磁性微粒为固相载体,比表面积大,灵敏度高。以全自动免疫分析仪为检测工具,成本低。

1. 甲型肝炎病毒抗体IgM检测试剂盒,其特征在于,包括:
校准品;
质控品;
抗人IgM单克隆抗体包被的磁微粒混悬液;
化学发光标记物标记的HAV抗体;
游离HAV抗原。
2. 根据权利要求1所述的甲型肝炎病毒抗体IgM检测试剂盒,其特征在于,所述抗人IgM单克隆抗体包被的磁微粒混悬液中,磁微粒浓度为0.05~0.2%,磁微粒粒径为1~3 μ m。
3. 根据权利要求1所述的甲型肝炎病毒抗体IgM检测试剂盒,其特征在于,所述抗人IgM单克隆抗体包被的磁微粒混悬液中,抗人IgM单克隆抗体与磁微粒包被质量比例为1:500~1:50。
4. 根据权利要求1所述的甲型肝炎病毒抗体IgM检测试剂盒,其特征在于,所述化学发光标记物标记的HAV抗体浓度为0.1~2 μ g/mL。
5. 根据权利要求1所述的甲型肝炎病毒抗体IgM检测试剂盒,其特征在于,所述化学发光标记物标记的HAV抗体中,化学发光标记物与HAV抗体的摩尔比为1:1~10:1。
6. 根据权利要求1所述的甲型肝炎病毒抗体IgM检测试剂盒,其特征在于,所述化学发光标记物为吡啶酯或吡啶酯衍生物。
7. 根据权利要求1所述的甲型肝炎病毒抗体IgM检测试剂盒,其特征在于,所述游离HAV抗原浓度为0.01~0.5 μ g/mL。
8. 制备权利要求1至7中任意一项所述的甲型肝炎病毒抗体IgM检测试剂盒的方法,其特征在于,包括以下步骤:
步骤一、制备抗人IgM单克隆抗体包被的磁微粒混悬液;
步骤二、制备化学发光标记物标记的HAV抗体;
步骤三、制备游离HAV抗原;
步骤四、制备校准品、质控品。
9. 根据权利要求8所述的制备方法,其特征在于,步骤一的具体过程如下:
(1) 洗涤
取浓度为5%的磁颗粒溶液0.3mL,加入0.9mL包被缓冲液稀释磁颗粒浓度至0.5%,混匀后,放置于磁分离器上,直至上清无浑浊,弃上清,留取磁颗粒,在磁颗粒中加入1mL包被缓冲液将磁珠悬起,按上述方法再进行分离并重悬;
(2) 活化
采用20mM、pH 6.5的磷酸缓冲液为活化缓冲液,10mg/mL EDC为活化剂,活化温度为25 $^{\circ}$ C,活化时间为60min;
(3) 包被
采用pH 7.0的磷酸缓冲液为包被缓冲液,包被温度为25 $^{\circ}$ C,包被时间为12h;
(4) 封闭
采用pH 8.0、10%BSA缓冲液为封闭缓冲液,封闭温度为25 $^{\circ}$ C,封闭时间为2h,得到R1试剂。
10. 根据权利要求8所述的制备方法,其特征在于,步骤二的具体过程如下:

(1) 取0.5mg HAV抗体,用30KDa孔径超滤离心管进行超滤离心,将原材料缓冲液置换为标记缓冲液,9000rpm离心30min;所述原材料缓冲液为20mM、pH 7.4的PB和0.01% SDS;所述标记缓冲液为100mmol/L PB和150mmol/L NaCl, pH6.0;

(2) 按照化学发光标记物与HAV抗体的摩尔比为1:1~10:1的比例加入化学发光标记物原液,混匀,37℃,标记4h;

(3) 标记反应结束后,加入封闭缓冲液,封闭时间为1h;所述封闭缓冲液为100mmol/L PB、150mmol/L NaCl和10%赖氨酸, pH6.0;

(4) 封闭后用30KDa孔径超滤离心管进行超滤离心,除去未偶联的分子。超滤结束后,测定蛋白浓度,作为中间品保存,用于试剂配制;

(5) 取中间品和试剂缓冲液,配制成抗体浓度为0.5μg/mL的R2试剂,所述试剂缓冲液为100mmol/L PB和150mmol/L NaCl, pH6.0。

甲型肝炎病毒抗体IgM检测试剂盒及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明属于化学发光体外诊断技术领域,具体涉及一种甲型肝炎病毒抗体IgM检测试剂盒及其制备方法。

背景技术

[0002] 甲型肝炎是由甲型肝炎病毒(HAV)感染所引起的,通过粪-口途径进行传播,传染的发生主要是由于食用了被污染的食物或居住的卫生条件差。HAV是直径为27nm、单股正链RNA病毒,被归类为小核糖核酸病毒,具有传染性。HAV经由口侵入体内后先在口咽部或唾液腺中增殖,然后在小肠淋巴结内增殖,继而进入血液中,形成病毒血症,再侵犯肝脏,在肝脏内进行增殖,再经由胆汁分泌,最后由粪便排出体外。世界各地分离的HAV毒株均属于同一血清型,与其他肝炎病毒无交叉反应。HAV的潜伏期通常为30天(15~40d),发病急,可造成暴发或散发流行,一般不转为慢性,无慢性携带者,预后良好。在发病后的2周可出现肝肿大、黄疸、深色尿、易疲劳、肠胃不适等症状。在症状出现的前期,HAV抗体就能够被检测出来。抗-HAVIgM在发病初期的3-6个月能够被检测出来,然而恢复期出现抗HAV IgG可持续多年。由于抗-HAV IgM在血清中短时存在,可以表明是长期还是近期感染,其是诊断急性HAV感染极有价值的血清标记物。由于甲型肝炎病毒、乙型肝炎病毒或丙型肝炎病毒感染所引起的症状并不能用于临床鉴别,所以血清学检测是重要的诊断手段。

发明内容

[0003] 本发明的目的是提供一种甲型肝炎病毒抗体IgM检测试剂盒及其制备方法,主要用于体外检测人血清、血浆中甲型肝炎病毒抗体IgM的含量。

[0004] 本发明为解决技术问题所采用的技术方案如下:

[0005] 本发明的甲型肝炎病毒抗体IgM检测试剂盒,主要包括:

[0006] 校准品;

[0007] 质控品;

[0008] 抗人IgM单克隆抗体包被的磁微粒混悬液;

[0009] 化学发光标记物标记的HAV抗体;

[0010] 游离HAV抗原。

[0011] 作为优选的实施方式,所述抗人IgM单克隆抗体包被的磁微粒混悬液中,磁微粒浓度为0.05~0.2%,磁微粒粒径为1~3 μ m。

[0012] 作为优选的实施方式,所述抗人IgM单克隆抗体包被的磁微粒混悬液中,抗人IgM单克隆抗体与磁微粒包被质量比例为1:500~1:50。

[0013] 作为优选的实施方式,所述化学发光标记物标记的HAV抗体浓度为0.1~2 μ g/mL。

[0014] 作为优选的实施方式,所述化学发光标记物标记的HAV抗体中,化学发光标记物与HAV抗体的摩尔比为1:1~10:1。

[0015] 作为优选的实施方式,所述化学发光标记物为吖啶酯或吖啶酯衍生物。

[0016] 作为优选的实施方式,所述游离HAV抗原浓度为0.01~0.5 μ g/mL。

[0017] 本发明的甲型肝炎病毒抗体IgM检测试剂盒的制备方法,主要包括以下步骤:

[0018] 步骤一、制备抗人IgM单克隆抗体包被的磁微粒混悬液;

[0019] 步骤二、制备化学发光标记物标记的HAV抗体(R2试剂);

[0020] 步骤三、制备游离HAV抗原(R3试剂);

[0021] 步骤四、制备校准品、质控品。

[0022] 作为优选的实施方式,步骤一的具体过程如下:

[0023] (1) 洗涤

[0024] 取浓度为5%的磁颗粒溶液0.3mL,加入0.9mL包被缓冲液稀释磁颗粒浓度至0.5%,混匀后,放置于磁分离器上,直至上清无浑浊,弃上清,留取磁颗粒,在磁颗粒中加入1mL包被缓冲液将磁珠悬起,按上述方法再进行分离并重悬;

[0025] (2) 活化

[0026] 采用20mM、pH 6.5的磷酸缓冲液为活化缓冲液,10mg/mL EDC为活化剂,活化温度为25 $^{\circ}$ C,活化时间为60min;

[0027] (3) 包被

[0028] 采用pH 7.0的磷酸缓冲液为包被缓冲液,包被温度为25 $^{\circ}$ C,包被时间为12h;

[0029] (4) 封闭

[0030] 采用pH 8.0、10%BSA缓冲液为封闭缓冲液,封闭温度为25 $^{\circ}$ C,封闭时间为2h,得到R1试剂。

[0031] 作为优选的实施方式,步骤二的具体过程如下:

[0032] (1) 取0.5mg HAV抗体,用30KDa孔径超滤离心管进行超滤离心,将原材料缓冲液置换为标记缓冲液,9000rpm离心30min;所述原材料缓冲液为20mM、pH 7.4的PB和0.01%SDS;所述标记缓冲液为100mmol/LPB和150mmol/L NaCl,pH6.0;

[0033] (2) 按照化学发光标记物与HAV抗体的摩尔比为1:1~10:1的比例加入化学发光标记物原液,混匀,37 $^{\circ}$ C,标记4h;

[0034] (3) 标记反应结束后,加入封闭缓冲液,封闭时间为1h;所述封闭缓冲液为100mmol/LPB、150mmol/LNaCl和10%赖氨酸,pH6.0;

[0035] (4) 封闭后用30KDa孔径超滤离心管进行超滤离心,除去未偶联的分子。超滤结束后,测定蛋白浓度,作为中间品保存,用于试剂配制;

[0036] (5) 取中间品和试剂缓冲液,配制成抗体浓度为0.5 μ g/mL的R2试剂,所述试剂缓冲液为100mmol/LPB和150mmol/LNaCl,pH6.0。

[0037] 作为优选的实施方式,步骤三的具体过程如下:

[0038] 取0.5mg HAV抗原,用试剂缓冲液稀释成母液,所述试剂缓冲液为100mmol/LPB和150mmol/LNaCl,pH6.0,得到R3试剂。

[0039] 取赋值结果为10.0S/CO的甲型肝炎病毒抗体IgM阳性血清,用校准品基质稀释成2.0S/CO,作为高浓度校准品;

[0040] 取校准品基质赋值结果为0.0S/CO,作为低浓度校准品;

[0041] 取赋值结果为10.0S/CO的甲型肝炎病毒抗体IgM阳性血清,用质控品基质稀释成2.0S/CO,作为高浓度质控品;

[0042] 取质控品基质赋值结果为0.0S/C0,作为低浓度质控品。

[0043] 本发明的有益效果是:

[0044] 1、本发明使用抗原直接包被磁珠的间接法解决了非特异性抗体吸附的问题,具体使用抗人IgM单克隆抗体包被的磁微粒混悬液-样本中HAV IgM抗体-游离HAV抗原-化学发光标记物标记的HAV抗体体系,可以特异性识别样本中的HAVIgM抗体,避免非特异性结合,造成假阳性结果,操作简单、定量检测准确、快速。

[0045] 2、本发明采用吖啶酯直接发光,降低了本底空白,提高了灵敏度。

[0046] 3、本发明采用顺磁性的微粒作为固相载体,其比表面积大,提高了检测的灵敏度。

[0047] 4、本发明能够以全自动化学发光免疫分析仪为检测工具,完成HAV IgM抗体的检测,无需大型仪器设备配合,检测成本较低,且无放射性污染,可大规模的开展和推广。

具体实施方式

[0048] 本发明的甲型肝炎病毒抗体IgM检测试剂盒,主要包括:(1)校准品;(2)质控品;(3)抗人IgM单克隆抗体包被的磁微粒混悬液;(4)化学发光标记物标记的HAV抗体;(5)游离HAV抗原。

[0049] 抗人IgM单克隆抗体包被的磁微粒混悬液中,磁微粒浓度优选为0.05~0.2%,磁微粒粒径优选为1~3 μ m。

[0050] 抗人IgM单克隆抗体包被的磁微粒混悬液中,抗人IgM单克隆抗体与磁微粒包被质量比例优选为1:500~1:50。

[0051] 化学发光标记物标记的HAV抗体浓度优选为0.1~2 μ g/mL。

[0052] 化学发光标记物标记的HAV抗体中,化学发光标记物与HAV抗体的摩尔比优选为1:1~10:1。

[0053] 化学发光标记物优选为吖啶酯或吖啶酯衍生物,更优选为吖啶酯。

[0054] 游离HAV抗原浓度优选为0.01~0.5 μ g/mL。

[0055] 本发明的甲型肝炎病毒抗体IgM检测试剂盒的制备方法,主要包括以下步骤:

[0056] 步骤一、制备抗人IgM单克隆抗体包被的磁微粒混悬液(R1试剂)

[0057] (1)洗涤

[0058] 取浓度为5%的磁颗粒溶液0.3mL,加入0.9mL包被缓冲液稀释磁颗粒浓度至0.5%,混匀后,放置于磁分离器上,直至上清无浑浊,弃上清,留取磁颗粒,在磁颗粒中加入1mL包被缓冲液将磁珠悬起,按上述方法再进行分离并重悬;

[0059] (2)活化

[0060] 采用20mM、pH 6.5的磷酸缓冲液为活化缓冲液,10mg/mL EDC为活化剂,活化温度为25 $^{\circ}$ C,活化时间为60min;

[0061] (3)包被

[0062] 采用pH 7.0的磷酸缓冲液为包被缓冲液,包被温度为25 $^{\circ}$ C,包被时间为12h;

[0063] (4)封闭

[0064] 采用pH 8.0、10%BSA缓冲液为封闭缓冲液,封闭温度为25 $^{\circ}$ C,封闭时间为2h。

[0065] 步骤二、制备化学发光标记物标记的HAV抗体(R2试剂)

[0066] (1)取0.5mg HAV抗体,用30KDa孔径超滤离心管进行超滤离心,将原材料缓冲液置

换为标记缓冲液,9000rpm离心30min;所述原材料缓冲液为20mM、pH 7.4的PB和0.01%SDS;所述标记缓冲液为100mmol/L PB和150mmol/L NaCl,pH6.0;

[0067] (2) 按照化学发光标记物与HAV抗体的摩尔比为1:1~10:1的比例加入化学发光标记物原液,混匀,37℃,标记4h;

[0068] (3) 标记反应结束后,加入封闭缓冲液,封闭时间为1h;所述封闭缓冲液为100mmol/LPB、150mmol/LNaCl和10%赖氨酸,pH6.0;

[0069] (4) 封闭后用30KDa孔径超滤离心管进行超滤离心,除去未偶联的分子。超滤结束后,测定蛋白浓度,作为中间品保存,用于试剂配制;

[0070] (5) 取中间品和试剂缓冲液,配制成抗体浓度为0.5μg/mL的R2试剂,所述试剂缓冲液为100mmol/LPB和150mmol/LNaCl,pH6.0。

[0071] 步骤三、制备游离HAV抗原(R3试剂)

[0072] 取0.5mg HAV抗原,用试剂缓冲液稀释成母液,所述试剂缓冲液为100mmol/LPB和150mmol/LNaCl,pH6.0。

[0073] 步骤四、制备校准品、质控品。

[0074] 取赋值结果为10.0S/CO的甲型肝炎病毒抗体IgM阳性血清,用校准品基质稀释成2.0S/CO,作为高浓度校准品。

[0075] 取校准品基质赋值结果为0.0S/CO,作为低浓度校准品。

[0076] 取赋值结果为10.0S/CO的甲型肝炎病毒抗体IgM阳性血清,用质控品基质稀释成2.0S/CO,作为高浓度质控品。

[0077] 取质控品基质赋值结果为0.0S/CO,作为低浓度质控品。

[0078] 本发明的甲型肝炎病毒抗体IgM检测试剂盒适用于体外检测人血清、血浆中甲型肝炎病毒抗体IgM的含量。利用本发明的甲型肝炎病毒抗体IgM检测试剂盒进行HAV IgM抗体检测时,利用全自动化学发光免疫分析仪对大量样本进行检测,通过统计学方法计算出公式,内置于射频卡;接着测试两点校准,测试质控品,质控品测试结果落在靶值范围内认为校准合格。测试样本,根据样本相对发光强度(RLU)计算样本浓度。

[0079] 本发明的甲型肝炎病毒抗体IgM检测试剂盒使用抗人IgM单克隆抗体包被的磁微粒混悬液-样本中HAV IgM抗体-游离HAV抗原-化学发光标记物标记的HAV抗体体系,可以特异性识别样本中的HAV IgM抗体,避免非特异性结合,造成假阳性结果。

[0080] 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。

[0081] 实施例1甲型肝炎病毒抗体IgM检测试剂盒的制备

[0082] 1、抗人IgM单克隆抗体包被的磁颗粒悬浮液制备

[0083] (1) 磁颗粒溶液的洗涤

[0084] 取浓度为5%的磁颗粒溶液0.3mL(15mg),加入0.9mL包被缓冲液稀释磁颗粒浓度至0.5%,充分混匀10min后,放置于磁分离器上,直至上清无浑浊,弃上清,留取磁颗粒;在磁颗粒中加入1mL包被缓冲液将磁珠充分悬起;按上述方法再进行分离并重悬。

[0085] (2) 磁颗粒的活化(整个活化过程温度控制在25±0.5℃)

[0086] 取洗涤好的浓度为0.5%的磁颗粒3mL (15mg), 分次缓慢加入EDC浓度为10mg/mL的活化缓冲液26.25μL, 边加边混匀, 加完后, 置于血液混匀仪上 (25℃), 中速混匀60min; 放置于磁分离器上, 直至上清无浑浊, 弃上清, 留取磁颗粒; 在活化好的磁颗粒沉淀中加入1.5mL的包被缓冲液。

[0087] (3) 抗人IgM单克隆抗体的包被

[0088] 取活化好的磁颗粒0.5mL (5mg), 加入0.05mg抗人IgM单克隆抗体, 置于血液混匀仪上 (25℃), 中速混匀, 包被12h。

[0089] (4) 封闭

[0090] 向上述包被物中, 分别加入0.1mL的封闭缓冲液, 置于血液混匀仪上 (25℃), 中速混匀, 封闭2h; 将封闭后磁颗粒溶液放置于磁分离器上, 直至上清无浑浊, 弃上清, 留取磁颗粒沉淀。再分别加入1mL的包被缓冲液, 充分悬起, 置于血液混匀仪上 (25℃), 中速混匀15min; 放置于磁分离器上, 直至上清无浑浊, 弃上清, 留取磁颗粒, 加入包被缓冲液, 充分涡旋混匀。

[0091] 2、化学发光标记物标记的HAV抗体的制备:

[0092] (1) 取0.5mg HAV抗体, 用30KDa孔径超滤离心管进行超滤离心, 将原材料缓冲液置换为标记缓冲液, 离心机转速为9000rpm, 离心时间为30min; 所述原材料缓冲液为20mM PB, pH 7.4, 0.01% SDS; 所述标记缓冲液为100mmol/L PB, 150mmol/L NaCl, pH6.0。

[0093] (2) 按照吡啶酯与HAV抗体的摩尔比为1:1~10:1的比例加入吡啶酯原液, 混匀, 37℃, 标记4h。

[0094] (3) 标记反应结束后, 加入封闭缓冲液, 封闭时间为1h; 所述封闭缓冲液为100mmol/L PB、150mmol/L NaCl和10% 赖氨酸, pH6.0。

[0095] (4) 封闭后用30KDa孔径超滤离心管进行超滤离心, 除去未偶联的分子。超滤结束后, 测定蛋白浓度, 作为中间品保存, 用于试剂配制。

[0096] (5) 取中间品和试剂缓冲液, 配制成抗体浓度为0.5μg/mL的R2试剂, 所述试剂缓冲液为100mmol/L PB和150mmol/L NaCl, pH6.0。

[0097] 3、游离HAV抗原的制备

[0098] 取0.5mg HAV抗原, 取适量试剂缓冲液进行稀释, 稀释成母液, 使用时按照使用浓度进行使用; 所述试剂缓冲液为100mmol/L PB, 150mmol/L NaCl, pH6.0。

[0099] 4、甲型肝炎病毒抗体IgM校准品、质控品的制备

[0100] 取赋值结果为10.0S/CO的甲型肝炎病毒抗体IgM阳性血清, 用校准品基质稀释成2.0S/CO, 作为高浓度校准品。

[0101] 取校准品基质赋值结果为0.0S/CO, 作为低浓度校准品。

[0102] 取赋值结果为10.0S/CO的甲型肝炎病毒抗体IgM阳性血清, 用质控品基质稀释成2.0S/CO, 作为高浓度质控品。

[0103] 取质控品基质赋值结果为0.0S/CO, 作为低浓度质控品。

[0104] 实施例2甲型肝炎病毒抗体IgM检测试剂盒的检测方法

[0105] 以全自动化学发光免疫分析仪 (CM-180) 为检测工具, 方法学模式为捕获法, 样本量10μL, 抗人IgM单克隆抗体包被磁珠40μL, 化学发光物质标记的HAV抗体试剂量50μL, 游离HAV抗原试剂量50μL。加入样本10μL, 加入890μL稀释液, 稀释90倍, 然后再取10μL稀释后的

样本,加入90 μ L稀释液,加入R1试剂孵育18min,洗涤,加入R2试剂、R3试剂孵育5min,洗涤。仪器将反应物送入暗室,一次加入发光底物液A液($\text{HNO}_3+\text{H}_2\text{O}_2$ 溶液)和B液(NaOH 溶液)进行反应,最后记录相对光单位(RLU)。

[0106] 实施例3甲型肝炎病毒抗体IgM企业参考品的制备

[0107] 本参考品从全国供血员和肝炎病人中选出,经过国外几家甲型肝炎病毒抗体IgM试剂筛选,全部样品均为血清。

[0108] 阴性参考品:

[0109] 由20份正常人血清组成,甲型肝炎病毒抗体IgM均为阴性。选用HAV IgM抗体为阴性的正常人血清,以0.2 μ m滤膜过滤后,置于2~8 $^{\circ}\text{C}$ 保存。-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存时,有效期两年。

[0110] 阳性参考品:

[0111] 用于控制诊断试剂对甲型肝炎病毒抗体IgM样品的检出能力。选用HAV IgM抗体阳性血清,经60 $^{\circ}\text{C}$ 、1h处理后,以0.2 μ m滤膜过滤后,置于2~8 $^{\circ}\text{C}$ 保存。-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存时,有效期两年。

[0112] 最低检出限参考品:

[0113] 用于控制诊断试剂的灵敏度,由阴性血清稀释的甲型肝炎病毒抗体IgM阳性血清样本组成。

[0114] 精密度参考品:

[0115] 用于控制诊断试剂的重复性。由1份中等偏弱阳的血清组成。

[0116] 1、参考品用途

[0117] 本参考品系用HAV IgM抗体阴性和阳性血清组成,经过雅培测试的参考品。本参考品用于自配甲型肝炎病毒抗体IgM诊断试剂的质量检定。

[0118] 2、组成

[0119] (1) 阴性参考品20份,编号为N1~N20,0.5mL/支。

[0120] (2) 阳性参考品10份,编号为P1~P10,0.5mL/支。

[0121] (3) 最低检出限参考品:1份血清系列稀释组成,共3支,编号为L1~L3,0.5mL/支。稀释比例分别为:1:10、1:20、1:40。

[0122] (4) 精密度参考品1份,编号为CV,1.0mL/支。

[0123] 3、检测标准

[0124] 3.1 阴性参考品符合率20份阴性参考品检测符合率(-/-)为20/20。

[0125] 3.2 阳性参考品符合率10份阳性参考品检测符合率(+/-)为10/10。

[0126] 3.3 最低检出限:L1、L2为阳性,L3可阴可阳。

[0127] 3.4 精密度:平行检测精密度样本10次,要求 $\text{CV} \leq 15\%$ 。

[0128] 4、注意事项

[0129] (1) 本参考品应在-20 $^{\circ}\text{C}$ 以下保存,避免反复冻溶。

[0130] (2) 使用时应待样本完全融化摇匀。

[0131] 实施例4甲型肝炎病毒抗体IgM检测试剂盒性能评估

[0132] 1、阴性参考品符合率

[0133] 用实施例1制备的试剂盒检测甲型肝炎病毒抗体IgM企业阴性参考品,结果如表1所示,检测结果均为阴性,阴性参考品符合率为20/20。

[0134] 表1甲型肝炎病毒抗体IgM企业阴性参考品检测结果

[0135]	样本	S/CO	判断结果 (-/+)
	N1	0.12	-
	N2	0.20	-
	N3	0.43	-
[0136]	N4	0.11	-
	N5	0.32	-
	N6	0.14	-
	N7	0.22	-
	N8	0.35	-
	N9	0.17	-
	N10	0.08	-
	N11	0.30	-
	N12	0.26	-
	N13	0.15	-
	N14	0.23	-
	N15	0.18	-
	N16	0.09	-
	N17	0.24	-
	N18	0.13	-
	N19	0.21	-
	N20	0.27	-

[0137] (2) 阳性参考品符合率

[0138] 用实施例1制备的试剂盒检测甲型肝炎病毒抗体IgM企业阳性参考品,结果如表2所示,检测结果均为阳性,阳性参考品符合率为10/10。

[0139] 表2甲型肝炎病毒抗体IgM企业阳性参考品检测结果

[0140]	样本	S/CO	判断结果 (-/+)
	P1	2.67	+
	P2	2.24	+
	P3	1.64	+
	P4	2.55	+
	P5	2.97	+
	P6	3.08	+
	P7	1.25	+
	P8	5.11	+
	P9	1.48	+
	P10	2.32	+

[0141] (3) 最低检出限

[0142] 用实施例1制备的试剂盒检测甲型肝炎病毒抗体IgM企业最低检出限参考品,结果如表3所示,最低检出限L1、L2测试结果均为阳性,L3为阴性,即1:20稀释倍数下测试结果仍为阳性,判定试剂的灵敏度合格:

[0143] 表3甲型肝炎病毒抗体IgM最低检出限参考品检测结果

[0144]	样本	S/CO	判断结果 (-/+)
	L1	3.42	+
[0145]	L2	1.51	+
	L3	0.49	-

[0146] (4) 精密度

[0147] 用实施例1制备的试剂盒检测甲型肝炎病毒抗体IgM企业精密度参考品,重复测定10次,计算10次测量结果的平均值 $\bar{X}$ 和标准差SD,根据公式(1)计算变异系数(CV),测定结果如表4所示。

[0148]
$$CV = \frac{SD}{\bar{X}} \times 100\% \dots\dots\dots (1)$$

[0149] 式中:CV为变异系数;SD为测量结果的标准差; $\bar{X}$ 为测量结果的平均值。

[0150] 表4甲型肝炎病毒抗体IgM精密度测定结果

[0151]	序号	S/CO
	1	2.25
	2	2.38
	3	2.26
	4	2.33
	5	2.45
	6	2.42
	7	2.44
	8	2.39
	9	2.29
	10	2.31
	平均值	2.35
	SD	0.07
	CV	3.14%

[0152] 精密度试验的结论是:平均值为2.35S/CO, CV为2.88%, 小于15%, 判定试剂的重复性合格。

[0153] 本发明公开了一种甲型肝炎病毒抗体IgM检测试剂盒及其制备方法,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产品进行改动或适当变更与组合,来实现和应用本发明技术。

专利名称(译)	甲型肝炎病毒抗体IgM检测试剂盒及其制备方法		
公开(公告)号	CN110672850A	公开(公告)日	2020-01-10
申请号	CN201911056657.9	申请日	2019-10-31
[标]发明人	胡雪淞		
发明人	胡雪淞		
IPC分类号	G01N33/577 G01N33/569 G01N33/543 G01N33/532		
CPC分类号	G01N33/532 G01N33/5434 G01N33/56983 G01N33/577 G01N2333/10		
代理人(译)	于晓庆		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

甲型肝炎病毒抗体IgM检测试剂盒及其制备方法，属于化学发光体外诊断领域，用于体外检测人血清、血浆中甲型肝炎病毒抗体IgM的含量。该试剂盒包括校准品；质控品；抗人IgM单克隆抗体包被的磁微粒混悬液；化学发光标记物标记的HAV抗体；游离HAV抗原。使用抗人IgM单克隆抗体包被的磁微粒混悬液-样本中HAV IgM抗体-游离HAV抗原-化学发光标记物标记的HAV抗体体系，能特异性识别样本中的HAV IgM抗体，避免非特异性结合造成假阳性结果，操作简单、定量检测准确快速。采用吖啶酯直接发光，降低了本底空白，灵敏度高。以顺磁性微粒为固相载体，比表面积大，灵敏度高。以全自动免疫分析仪为检测工具，成本低。

样本	SCO	判断结果 (+/-)
N1	0.12	.
N2	0.20	.
N3	0.43	.