



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 107589267 B

(45)授权公告日 2019.08.02

(21)申请号 201710744877.5

G01N 33/531(2006.01)

(22)申请日 2017.08.25

(56)对比文件

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 107589267 A

CN 1742096 A, 2006.03.01, 全文.

CN 101046473 A, 2007.10.03, 全文.

CN 101893619 A, 2010.11.24, 全文.

CN 103454431 A, 2013.12.18, 全文.

CN 106771228 A, 2017.05.31, 全文.

US 6730493 B1, 2004.05.04, 全文.

(43)申请公布日 2018.01.16

(73)专利权人 柏荣诊断产品(上海)有限公司

地址 200444 上海市宝山区丰翔路1919号2幢5楼

审查员 周洋

(72)发明人 王钊 庞傅

(74)专利代理机构 成都顶峰专利事务所(普通合伙) 51224

代理人 杨军

(51)Int.Cl.

G01N 33/68(2006.01)

G01N 33/52(2006.01)

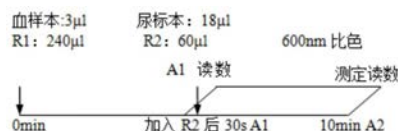
权利要求书1页 说明书22页 附图6页

(54)发明名称

一种血尿同测的全量程β2-微球蛋白测定试剂盒

(57)摘要

本发明属于生物检测技术领域。为解决现有的β2-微球蛋白试剂盒不能够实现血尿同测的全量程测定的技术问题,本发明提供一种血尿同测的全量程β2-微球蛋白测定试剂盒,试剂盒的试剂1中添加了过硫酸盐,所述过硫酸盐在试剂1中的浓度为1~10mmol/L。本发明相对目前主流试剂,尿液β2-微球蛋白测定线性范围提升3倍以上,大幅度减少需要稀释复检的样本,节约成本;本发明具有采用同一个试剂同一个参数,同一个试剂位,可同时测定血液和尿液中的β2-微球蛋白含量,节约医院仪器试剂位,使用方便的特点。



1. 一种血尿同测的全量程 β 2-微球蛋白测定试剂盒,其特征在于,试剂盒的试剂1中添加了过硫酸盐,所述过硫酸盐为过硫酸钾或过硫酸铵;所述试剂1为由如下浓度的组分组成的溶液:氯化钠:700mmol/L;聚乙二醇6000:4g/L;防腐剂Proclin300:0.35ml/L;过硫酸盐:1~10mmol/L;所述试剂盒采用的检测方法为胶乳免疫比浊法;

试剂盒的试剂2为由如下浓度的组分组成的溶液:胶乳溶液:3.75g/L; β 2-MG抗体:12ml/L;防腐剂Proclin300:0.152ml/L。

2. 根据权利要求1所述的血尿同测的全量程 β 2-微球蛋白测定试剂盒,其特征在于,所述过硫酸盐为过硫酸钾。

3. 根据权利要求2所述的血尿同测的全量程 β 2-微球蛋白测定试剂盒,其特征在于,所述试剂盒的试剂1中添加了过硫酸钾,所述过硫酸钾在试剂1中的浓度为1mmol/L、5mmol/L或10mmol/L。

一种血尿同测的全量程 β 2-微球蛋白测定试剂盒

技术领域

[0001] 本发明属于生物检测技术领域,具体涉及一种血尿同测的全量程 β 2-微球蛋白测定试剂盒。

背景技术

[0002] β 2-微球蛋白是由淋巴细胞、血小板、多形核白细胞产生的的一种内源性低分子量的血清蛋白质,相对分子质量为11.8KD,主要组织相容性抗原(HLA)的 β 链(轻链)部分,存在于细胞的表面,不含糖。 β 2-微球蛋白广泛存在于血液、尿液等体液中,其含量极微。

[0003] 正常人的 β 2-微球蛋白的合成率及从细胞膜上的释放量相当恒定, β 2-微球蛋白可以从肾小球自由滤过,但近99.9%的 β 2-微球蛋白在近端肾小管又被重吸收,并在此全部被分解成氨基酸,不再返流入血液;故而正常情况下 β 2-微球蛋白的排出是很微量的,由此血清 β 2-微球蛋白的升高可反映肾小球滤过功能受损或滤过负荷是否增加的情况;而尿液中排出 β 2-微球蛋白增高,则提示肾小管损害或滤过负荷增加;在急慢性肾盂肾炎时,因肾脏受损,故尿 β 2-微球蛋白升高,而膀胱炎患者则 β 2-微球蛋白正常;肾移植患者血、尿 β 2-微球蛋白明显增高,提示机体发生排斥反应,因 β 2-微球蛋白合成加速,虽肾清除增多,而血 β 2-微球蛋白仍增高。一般在移植后2-3天血 β 2-微球蛋白上升至高峰,随后逐渐下降。肾移植后连续测定血、尿 β 2-微球蛋白可作为肾小球和肾小管病变的敏感指标。如肾移植虽有少尿,但血 β 2-微球蛋白下降者提示预后良好。排异时血 β 2-微球蛋白增高先于Cr,测定 β 2-微球蛋白,有助于诊断尚处于亚临床期肾发生的排斥反应。 β 2-微球蛋白检测被认为是衡量糖尿病患者轻度肾功能减退和疗效观察的一项简便、精确而又敏感的方法。

[0004] 目前, β 2-微球蛋白测定多在全自动生化分析仪上采用胶乳免疫比浊法测定,一般地,按照国标文件GB/T21415-2008及有关规定进行测定。正常人血液中 β 2-微球蛋白含量 $< 2.8\text{mg/L}$,尿液中含量小于 0.3mg/L ,血和尿液中含量相差较为悬殊,相差接近一个数量级,测定尿液中的 β 2-微球蛋白需要试剂灵敏度足够高。如果使用同一个试剂,那么测定尿液就需要大幅度提高样本量增加灵敏度来测定,目前市面上的主流试剂均为同一个试剂两套参数的方式测试血和尿液中的 β 2-微球蛋白含量,即采用普通样本量参数测定血液,提高样本量的高敏参数测定尿液的方式,但这样做需要大幅度缩减尿液的线性范围上限。比如全球最著名的日本Denka Seiken试剂,血液参数为 $2\mu\text{L}$ 样本, $180\mu\text{L}$ 试剂1(缓冲液), $80\mu\text{L}$ 试剂2(标记有抗 β 2-微球蛋白抗体的致敏胶乳);尿液参数则将样本量提高到了 $10\mu\text{L}$,试剂1和试剂2加入量不变。尿液线性范围上限(8mg/L)相比血液(80mg/L)缩减了10倍。又如国内市场占有率较高,且有发明专利的宁波美康生物的 β 2-微球蛋白试剂盒,血液参数为 $3\mu\text{L}$ 样本, $240\mu\text{L}$ 试剂1(缓冲液), $60\mu\text{L}$ 试剂2(标记有抗 β 2-微球蛋白抗体的致敏胶乳);而尿液参数则为 $15\mu\text{L}$ 样本,试剂1和试剂2加入量不变。尿液线性范围上限(3mg/L)相比血液(18mg/L)缩减了6倍。

[0005] 而临床上,尿液中 β 2-微球蛋白超过 3mg/L 甚至 8mg/L 含量的样本很多,且高浓度标本也会大于 200mg/L ,采用尿液增大样本量方式测定,需要保证高浓度样本不出现抗原过剩

H00K效应,线性范围必须大幅度降低(如DenkaSeiken和美康生物一样),但这样造成医院检验科大量尿液标本需要稀释复检。在市场调研中发现,很多一线检验科医务人员提出,能否有在一个试剂位上,用同一套参数,使用一个试剂,不改变参数(样本量,试剂1试剂2用量),即可测定尿液,又可测定血液中 β 2-微球蛋白含量,即实现血尿同测的 β 2-微球蛋白全量程试剂。

[0006] 要实现血尿同测的 β 2-微球蛋白全量程试剂,需要大幅度(5-10倍)提高试剂的低端灵敏度(测定中低浓度样本时的灵敏度)。例如胶乳免疫比浊中,常规提高试剂灵敏度的方法有提高增敏剂如聚乙二醇6000)浓度;添加大粒径胶乳,如使用双胶乳法或者柏荣诊断产品(上海)有限公司公开的多胶乳Muti-Latex技术;使用更高亲和力抗体,如使用兔多抗;改变抗原抗体比例(即试剂量不变情况下增加样本量)的方式,但是,由于目前生化检测项目很多,医院仪器试剂位很紧张,两种不同参数,需要占用两个不同的仪器试剂位,因此不宜使用改变参数且需要新增试剂位的增加样本量的方式。

[0007] 另外,采用增敏剂,大粒径胶乳,高亲和力抗体均只能在较小范围内整体增加试剂灵敏度,增敏剂和大粒径胶乳均对线性及抗原过剩范围有不利影响, β 2-微球蛋白是需要保证高抗原过剩范围的试剂,增敏剂和大粒径胶乳施展空间有限。在不影响线性范围和抗原过剩范围情况下,增敏剂、大粒径胶乳加上高亲和力兔多抗3者联用,最多能够提高1倍试剂的低端灵敏度,与实现血尿同测的 β 2-微球蛋白全量程试剂需要提高5-10倍低端灵敏度的需求相比,还有很大距离。所以国内外,目前均无企业能够实现血尿同测的全量程测定。

发明内容

[0008] 本发明的目的在于解决以上现有技术中存在的技术问题的至少一项,提供一种血尿同测的全量程 β 2-微球蛋白测定试剂盒;该试剂盒成本低廉、危险性低、利于长期存储、对于中低值样本低端灵敏度提升明显、尿液阴阳性临界样本满足 β 2-微球蛋白试剂盒国家行业标准中精密度(重复性)小于10%的要求。

[0009] 本发明的目的是通过以下技术方案实现的:

[0010] 一种血尿同测的全量程 β 2-微球蛋白测定试剂盒,试剂盒的试剂1中添加了过硫酸盐,所述过硫酸盐在试剂1中的浓度为1~10mmol/L。

[0011] 进一步的,所述过硫酸盐为过硫酸钾或过硫酸铵。

[0012] 进一步的,所述过硫酸盐为过硫酸钾。

[0013] 进一步的,所述的血尿同测的全量程 β 2-微球蛋白测定试剂盒,所述试剂1为由如下浓度的组分组成的溶液:氯化钠:700mmol/L、聚乙二醇6000:4g/L、防腐剂Proclin300:0.35ml/L。

[0014] 进一步的,所述的血尿同测的全量程 β 2-微球蛋白测定试剂盒,试剂盒的试剂2为由如下浓度的组分组成的溶液:胶乳溶液:3.75g/L; β 2-MG抗体:12ml/L;防腐剂Proclin300:0.152ml/L。

[0015] 进一步的,所述的血尿同测的全量程 β 2-微球蛋白测定试剂盒,所述试剂盒的试剂1中添加了过硫酸钾,所述过硫酸钾在试剂1中的浓度为1mmol/L、5mmol/L或10mmol/L。

[0016] 本发明相对于现有技术的有益效果是:

[0017] 1、本发明相对目前主流试剂,尿液 β 2-微球蛋白测定线性范围提升3倍以上,大幅

度减少需要稀释复检的样本,节约成本;

[0018] 2、本发明采用同一个试剂同一个参数,同一个试剂位,可同时测定血液和尿液中的 β 2-微球蛋白含量,节约医院仪器试剂位,使用方便;

[0019] 3、本发明通过实验和理论分析,从弱氧化剂硫酸镁、中性氧化剂碘化物、强氧化剂高锰酸钾和过硫酸盐中,最终优选出了成本低廉、无危险、利于长期存储,且对测定临床结果临床相关性无影响的过硫酸盐(过硫酸铵和过硫酸钾),特别优选在2-8°C内较为稳定的过硫酸钾,将过硫酸钾加入到试剂1中,终浓度为1~10mmol/L,用于 β 2-微球蛋白测定,单靠此因素试剂低端灵敏度提高150-300%,配合前述常规灵敏度提高因素的优化,例如已经公开的 β 2-微球蛋白试剂盒R1配方适当的PEG6000用量,公开的多胶乳(Muti-Latex)技术,以及使用高亲和力的Dako公司兔多克隆抗体,在不使用增加样本量的方式的情况下,试剂低端灵敏度相比其他市面主流试剂提高了350%-600%,从而使灵敏度足够高使得尿液临界值0.3mg/L精密度(重复性)CV<10%,满足 β 2-微球蛋白试剂盒国家行业标准中精密度(重复性)小于10%的要求,血液和尿液测定线性范围均达到0.20~24.00mg/L,且抗原过剩范围也不受影响,大于250mg/L,从而实现了 β 2-微球蛋白全量程的血尿同测。

附图说明

[0020] 图1 β 2-微球蛋白测定试剂盒操作流程图(表2的形象化)。

[0021] 图2 表4中各试剂厂家的 Δ ABS Y轴和浓度(mg/L) X轴的关系曲线图。

[0022] 图3 表5的空白理论浓度与实测浓度的线性拟合曲线。

[0023] 图4 表5的实验1的理论浓度与实测浓度的线性拟合曲线。

[0024] 图5 空白与实验1的临床比对实验的相关性图。

[0025] 图6 空白与实验1的抗原过剩测试数据的图形拟合曲线。

[0026] 图7 表11中各试剂厂家的 Δ ABS Y轴和浓度(mg/L) X轴的关系曲线图。

[0027] 图8 表12的实验2的实测浓度的线性拟合曲线。

[0028] 图9 表14空白与实验2的临床比对实验的相关性图。

[0029] 图10 空白与实验2的抗原过剩测试数据的图形拟合曲线。

[0030] 图11 表18中各试剂厂家的 Δ ABS Y轴和浓度(mg/L) X轴的关系曲线图。

[0031] 图12 表19的实验3的实测浓度的线性拟合曲线。

[0032] 图13 空白与实验3的临床比对实验的相关性图。

[0033] 图14 空白与实验3的抗原过剩测试数据的图形拟合曲线。

[0034] 图15 实施例4的各试剂厂家的 Δ ABS Y轴和浓度(mg/L) X轴的关系曲线图。

[0035] 图16 空白与实验4的临床比对实验的相关性图。

[0036] 其中,图1体现了样本量、试剂量、波长、反应时间和 Δ ABS计算方法。图2即所谓的标准曲线,直观反映各厂家试剂盒灵敏度差异,相同浓度下 Δ ABS数值越大,灵敏度越高。被测样本测定时仪器得到一个 Δ ABS数值,根据此标准曲线,计算出对应的被测物浓度;图3反映了空白对照试剂线性范围及其相关系数。将理论浓度作为X轴,实测浓度作为Y轴,在Excel中绘制散点图,添加线性趋势线,并显示公式和系数获得。通常相关系数(R)越接近1越好,行标要求>0.9900。同时,根据此线性回归公式带入理论浓度得到的估算浓度,与实测浓度间的偏差需要符合厂家说明书要求,偏差越小越好。即表5中估算浓度与实测浓度间的

偏差满足合格标准的要求,同时相关系数 >0.9900 ,则认为该试剂线性合格。图4原理同图3,反应了实验1试剂线性范围及其相关系数。图5将空白对照试剂测定结果作为Y轴,实验1测定结果作为X轴,在Excel中绘制散点图,添加线性趋势线,并显示公式和系数获得。相关系数 r 越接近1越好,通常要求 $r>0.9900$,线性方程 $y=ax+b$, a 值(相对偏差)越接近1越好,通常要求在 $0.85-1.15$ 之间可接受, b 的绝对值(绝对偏差)越小越好,绝对偏差暂无国家标准。图6将理论浓度作为X轴,实测浓度作为Y轴,在Excel中绘制散点图获得,将线性范围上限处做横线。厂家声称的抗原过剩范围数值对应的实测浓度需要 $>$ 线性范围上限,即在此图中位于线性范围上限上方。其余图参考图1-6的说明。

具体实施方式

[0037] 以下结合实施例对本发明的技术方案进行详细的说明,应当说明的是,以下仅是本发明的优选实施方式,对于本领域的普通技术人员来说,在不脱离本发明创造构思的前提下,还可以做出若干变形和改进,这些应当都属于本发明的保护范围。

[0038] 发明人潜心研究,做出了一个大胆的假设推论,并通过实验验证了其可行性。

[0039] 根据 $\beta 2$ -微球蛋白由99个氨基酸组成的单链多肽,分子内含一对二硫键的机构特征,再联系到多肽的二硫键易受还原剂影响断裂,导致蛋白多肽二级结构破坏成为线状多肽,减弱或者失去免疫原性的情况。而且还原剂和二硫键浓度比值越高,断裂发生率越大。考虑到血液和尿液中均含有强还原剂尿素,特别是尿液中,尿素含量较高,推导出在 $\beta 2$ -微球蛋白含量中低浓度的样本特别是尿液样本中,尿素与二硫键比值高,很可能在这些样本中 $\beta 2$ -微球蛋白大部分是处于二硫键断裂,成线状多肽分布的情况;而高浓度样本,因尿液和二硫键比值相对低,二硫键断裂相对少,多数蛋白保持二级空间结构。我司技术人员做出上述假设。进一步根据抗体与抗原决定簇结合的原理,如著名的风湿免疫指标——抗瓜氨酸环肽(Anti-CCP)测定中,二硫键折叠环化的瓜氨酸肽段免疫原性远远强于线状瓜氨酸肽。分析原因可能为线状多肽由于位阻或者抗原决定簇失去免疫原性,不利于抗体结合,用到 $\beta 2$ -微球蛋白测定中,线状多肽形式存在的 $\beta 2$ -微球蛋白可能会影响比浊测定,降低灵敏度。进而推导出中低浓度样本中的 $\beta 2$ -微球蛋白含量很难测定,试剂检测低端灵敏度低,与实际情况相符。

[0040] 发明人根据含二硫键蛋白在还原剂被中和或者浓度降低情况下,二硫键会重新形成,恢复蛋白二级空间结构的基础理论。推测可能使用适量的氧化剂可以平衡尿素还原作用,处于线状多肽分布的 $\beta 2$ -微球蛋白二硫键有可能在原来的位置重新形成,有可能重新形成二级结构,从而利于抗体与之结合,提高试剂对中低值样本的检测灵敏度,同时对高浓度样本这样做无太大影响,不影响检测线性范围和抗原过剩范围。

[0041] 根据前述假设和推论,发明人尝试了多种氧化剂,发现前述假设很可能是成立的,进而发现不同的氧化剂可以不同程度的提高 $\beta 2$ -微球蛋白免疫比浊试剂对中低值样本的检测灵敏度,而且,相对于前述常规的增敏剂,胶乳粒径,抗体亲和力因素,此种方式提高灵敏度主要针对中低值样本,低端灵敏度提升非常明显。进一步的发明人筛选了不同种类的氧化剂,如弱氧化剂硫酸镁,中性氧化剂碘化物,强氧化剂高锰酸钾,过硫酸盐等。然而,硫酸镁低端灵敏度提升效果相对低约 $50\sim 100\%$,且溶解度低,超过 200mmol/L 容易在低温存储中析出结晶。不符合CFDA注册试剂外观要求,不能使用;高锰酸钾虽然灵敏度提升效果明

显,但是属于危险品,不利于使用,放弃;碘化物在溶液中不稳定,易析出单体碘,导致溶液变色,不符合CFDA注册试剂外观要求,不能使用;最终优选出成本低廉,危险性低,利于长期存储,且对测定临床结果临床相关性无影响的过硫酸盐(过硫酸铵和过硫酸钾),特别优选在产品注册证试剂盒存储温度规定的2-8°C内较为稳定的过硫酸钾,加入到试剂1中至终浓度1~10mmol/L,用于 β 2-微球蛋白测定。单靠此因素试剂低端灵敏度提高150-300%,配合前述常规灵敏度提高因素的优化,如我司已经公开的 β 2-微球蛋白试剂盒R1配方适当的PEG6000用量,公开的多胶乳(Muti-Latex)技术,以及使用高亲和力的Dako公司兔多克隆抗体,在不使用增加样本量的方式的情况下,试剂低端灵敏度相比其他市面主流试剂提高了350%-600%,灵敏度足够高使得尿液临界值0.3mg/L精密度(重复性)CV<10%,满足 β 2-微球蛋白试剂盒国家行业标准中精密度(重复性)小于10%的要求,甚至最优方案能够满足CV<5%的注册说明书要求。血液和尿液测定线性范围均达到0.20~24.00mg/L,且抗原过剩范围也不受影响,大于250mg/L。实现血尿同测的 β 2-微球蛋白全量程试剂。

[0042] 一种血尿同测的全量程 β 2-微球蛋白测定试剂盒,试剂盒的试剂1中添加了过硫酸盐,终浓度为1~10mmol/L。进一步的,所述过硫酸盐为过硫酸钾或过硫酸铵。进一步的,所述过硫酸盐为过硫酸钾。

[0043] 发明人潜心研究,做出了一个大胆的假设推论,并通过实验验证了其可行性。

[0044] 根据 β 2-微球蛋白由99个氨基酸组成的单链多肽,分子内含一对二硫键的机构特征,再联系到多肽的二硫键易受还原剂影响断裂,导致蛋白多肽二级结构破坏成为线状多肽,减弱或者失去免疫原性的情况,而且还原剂和二硫键浓度比值越高,断裂发生率越大。考虑到血液和尿液中均含有强还原剂尿素,特别是尿液中,尿素含量较高,推导出在 β 2-微球蛋白含量中低浓度的样本特别是尿液样本中,尿素与二硫键比值高,很可能在这些样本中 β 2-微球蛋白大部分是处于二硫键断裂,成线状多肽分布的情况;而高浓度样本,因尿液和二硫键比值相对低,二硫键断裂相对少,多数蛋白保持二级空间结构。我司技术人员做出上述假设。进一步根据抗体与抗原决定簇结合的原理,如著名的风湿免疫指标-抗瓜氨酸环肽(Anti-CCP)测定中,二硫键折叠环化的瓜氨酸肽段免疫原性远远强于线状瓜氨酸肽。分析原因可能为线状多肽由于位阻或者抗原决定簇失去免疫原性,不利于抗体结合,用到 β 2-微球蛋白测定中,线状多肽形式存在的 β 2-微球蛋白可能会影响比浊测定,降低灵敏度。进而推导出中低浓度样本中的 β 2-微球蛋白含量很难测定,试剂检测低端灵敏度低,与实际情况相符。

[0045] 发明人根据含二硫键蛋白在还原剂被中和或者浓度降低情况下,二硫键会重新形成,恢复蛋白二级空间结构的基础理论。推测可能使用适量的氧化剂可以平衡尿素还原作用,处于线状多肽分布的 β 2-微球蛋白二硫键有可能在原来的位置重新形成,有可能重新形成二级结构,从而利于抗体与之结合,提高试剂对中低值样本的检测灵敏度,同时对高浓度样本这样做无太大影响,不影响检测线性范围和抗原过剩范围。

[0046] 根据前述假设和推论,发明人尝试了多种氧化剂,发现前述假设很可能是成立的,进而发现不同的氧化剂可以不同程度的提高 β 2-微球蛋白免疫比浊试剂对中低值样本的检测灵敏度,而且,相对于前述常规的增敏剂,胶乳粒径,抗体亲和力因素,此种方式提高灵敏度主要针对中低值样本,低端灵敏度提升非常明显。进一步的发明人筛选了不同种类的氧化剂,如弱氧化剂硫酸镁,中性氧化剂碘化物,强氧化剂高锰酸钾,过硫酸盐等。然而,硫

酸镁低端灵敏度提升效果相对低约50~100%，且溶解度低，超过200mmol/L容易在低温存储中析出结晶。不符合CFDA注册试剂外观要求，不能使用；高锰酸钾虽然灵敏度提升效果明显，但是属于危险品，不利于使用，放弃；碘化物在溶液中不稳定，易析出单体碘，导致溶液变色，不符合CFDA注册试剂外观要求，不能使用；最终优选出成本低廉，危险性低，利于长期存储，且对测定临床结果临床相关性无影响的过硫酸盐（过硫酸铵和过硫酸钾），特别优选在产品注册证试剂盒存储温度规定的2-8℃内较为稳定的过硫酸钾，加入1~10mmol/L到试剂1中，用于β2-微球蛋白测定，单靠此因素试剂低端灵敏度提高150-300%，配合前述常规灵敏度提高因素的优化，如我司已经公开的β2-微球蛋白试剂盒R1配方适当的PEG6000用量，公开的多胶乳 (Mutli-Latex) 技术，以及使用高亲和力的Dako公司兔多克隆抗体，在不使用增加样本量的方式的情况下，试剂低端灵敏度相比其他市面主流试剂提高了350%-600%，灵敏度足够高使得尿液临界值0.3mg/L精密度(重复性)CV<10%，满足β2-微球蛋白试剂盒国家行业标准中精密度(重复性)小于10%的要求，甚至最优方案能够满足CV<5%的注册说明书要求。血液和尿液测定线性范围均达到0.20~24.00mg/L，且抗原过剩范围也不受影响，大于250mg/L。实现血尿同测的β2-微球蛋白全量程试剂。

[0047] 一种血尿同测的全量程β2-微球蛋白测定试剂盒，试剂盒的试剂1中添加了过硫酸盐，所述过硫酸盐在试剂1中的浓度为1~10mmol/L。

[0048] 进一步的，所述过硫酸盐为过硫酸钾或过硫酸铵。

[0049] 进一步的，所述过硫酸盐为过硫酸钾。

[0050] 进一步的，所述的血尿同测的全量程β2-微球蛋白测定试剂盒，所述试剂1为由如下浓度的组分组成的溶液：氯化钠：700mmol/L、聚乙二醇6000：4g/L、防腐剂Proclin300：0.35ml/L。

[0051] 进一步的，所述的血尿同测的全量程β2-微球蛋白测定试剂盒，试剂盒的试剂2为由如下浓度的组分组成的溶液：胶乳溶液：3.75g/L；β2-MG抗体：12ml/L；防腐剂Proclin300：0.152ml/L。

[0052] 进一步的，所述的血尿同测的全量程β2-微球蛋白测定试剂盒，所述试剂盒的试剂1中添加了过硫酸钾，所述过硫酸钾在试剂1中的浓度为1mmol/L、5mmol/L或10mmol/L。

[0053] 对比实验

[0054] 使用的试剂盒名称：β2-微球蛋白测定试剂盒（胶乳免疫比浊法）。

[0055] 包装规格：如下表1。

[0056] 表1

组分	规格
试剂	R1 1000ml×4/R2 1000ml×1
	R1 40ml×3/R2 15ml×2
	R1 60ml×1/R2 15ml×1
	R1 40ml×1/R2 10ml×1
校准品（血清/血浆）	0.5ml×5 个水平
校准品（尿液）	0.5ml×5 个水平
质控品（血清/血浆）	低值质控 1ml×1/高值质控 1ml×1
质控品（尿液）	低值质控 1ml×1/高值质控 1ml×1

[0057] 注：基础包装组合为试剂盒、校准品和质控品；其中校准品和质控品只与本β2-微

球蛋白测定试剂盒(胶乳免疫比浊法)组合使用。

[0059] 预期用途:供医疗机构用于体外定量测定血清以及尿液样本中 β 2-微球蛋白的含量,作辅助诊断用。

[0060] 检验原理:采用兔抗人 β 2-微球蛋白抗体致敏的胶乳颗粒,与待测样品中 β 2-微球蛋白在液相中相遇,立即形成不溶性抗原-抗体复合物,并产生一定浊度。浊度高低反映样品中 β 2-微球蛋白的含量,通过与同样处理的校准品比较,即可计算出样品中 β 2-微球蛋白含量。

[0061] 主要组成成分

[0062] 试剂组分:

[0063] 试剂1 (R1):氯化钠:700mmol/L;聚乙二醇6000:4g/L;防腐剂Proclin300:0.35ml/L;

[0064] 试剂2 (R2):胶乳溶液3.75g/L; β 2-MG抗体:12ml/L;防腐剂Proclin300:0.152ml/L;

[0065] 不同批号试剂盒中各组份不能互换。

[0066] 校准品:

[0067] β 2-微球蛋白抗原:见各瓶签浓度;吐温-20:10ml/L;

[0068] 生物性来源:重组蛋白。

[0069] 质控品:

[0070] β 2-微球蛋白抗原:见各瓶签浓度;吐温-20:10ml/L;

[0071] 生物性来源:重组蛋白。

[0072] 储存条件及有效期:

[0073] 本品自生产日起2℃~8℃密封条件下可稳定12个月;开瓶上机后,在2℃~8℃密封条件下可稳定30天。

[0074] 适用仪器:

[0075] Hitachi7170,7180,7600,P模块...;AU480,680,5800...;Image 800。

[0076] 样品要求:

[0077] 样品为血清以及尿液标本;排除受污染样本以及严重溶血、脂血和黄疸样本。2℃~8℃贮存的标本应在24小时内测定,如标本存放超过24小时,应于-20℃以下冻存,融化混匀后必须离心,避免反复冻融。

[0078] 检验方法:

[0079] 1、基本参数

[0080] 方法:终点法 样品/试剂1/100;

[0081] 波长:600nm 反应温度:37℃;

[0082] 副波长:无 反应时间:10min;

[0083] 2、操作

[0084] 使用柏荣诊断配套校准品,在测定范围内采用配套的校准品进行多点校准,绘制工作曲线,具体操作如下表2。操作流程图见图1。

[0085] 表2

加入物 (μl)	空白校准	全点校准	样本测试
血样/尿液	/	/	3/18(2/12)
血校准品/ 尿校准品	/	3/18(2/12)	/
校准品零浓度/生 理盐水	3/18(2/12)	/	/
试剂R1	240(160)	240(160)	240(160)
混匀, 37℃恒温5分钟			
试剂R2	60(40)	60(40)	60(40)
混匀, 以R2加入后30秒测定吸光度A1, 37℃恒温4分30秒, 测定吸光度 A2, 计算 $\Delta A = A2 - A1$ 。			

[0087] 4、校准程序

[0088] 使用本试剂盒提供的β2-微球蛋白校准品,在测定范围内采用配套的校准品进行多点校准,校准周期为14天,更换试剂批号时需重新校准。采用Spline或Log4p进行曲线拟合计算。

[0089] 5、质控程序

[0090] 建议用配套质控品、品质有保证的第三方质控进行室内质控,测定的控制值应在确定的限制范围内,若控制值失控,实验室应采取适当的纠正措施。β2-微球蛋白在血样中以及尿液中稳定性都较差,不建议使用血样及尿液样本作为室内质控。

[0091] 6、计算

[0092] 以校准品浓度对相应吸光度变化 ΔA 做工作曲线,样品中β2-微球蛋白的 ΔA 在工作曲线上查出相应浓度。或采用所用仪器提供的非线性计算模式进行样品结果计算。

[0093] 参考区间:

[0094] 血清 $\leq 2.80\text{mg/L}$;尿液 $\leq 0.300\text{mg/L}$ (300.000ng/mL)。

[0095] 检验结果的解释:

[0096] 如果样品中β2-微球蛋白含量超过24.00mg/L (尿液2.400mg/L),则采用自动生化分析仪的减量模式进行测定,或者采用校准品零浓度/生理盐水稀释高浓度样品后测定,报告结果乘以稀释倍数。

[0097] 检验方法的局限性:

[0098] 1. 抗干扰能力可达到:血红蛋白 $\leq 3.0\text{g/L}$ 、胆红素 $\leq 342\mu\text{mol/L}$ 、甘油三酯 $\leq 11.3\text{mmol/L}$ 、抗RF $\leq 500\text{IU/mL}$;干扰物质超过给定的值,可能会导致测定的临床结果不准。

[0099] 2. 当血清或尿液样本中β2-微球蛋白含量大于250mg/L时,可能会出现最终检测值被低估的情况。

[0100] 产品性能指标:

[0101] 1. 试剂空白吸光度 ≤ 1.0000 (波长600nm、光径1cm&37℃)。

[0102] 2.分析灵敏度:每1mg/L的吸光度变化值(ΔA) ≥ 0.0250 。

[0103] 3.线性范围:试剂盒在(0.20-24.00)mg/L[尿液(0.040-2.400)mg/L]线性范围内应符合如下要求:

[0104] 线性相关系数 $r \geq 0.990$;

[0105] 血清样本中,浓度为(0.20-2.00)mg/L,线性绝对偏差不超过 ± 0.50 mg/L;浓度为(2.01-24.00)mg/L,相对偏差不超过 $\pm 15\%$ 。

[0106] 尿液样本中,浓度为(0.040-0.400)mg/L,绝对偏差不超过 ± 0.070 mg/L;浓度为(0.401-2.400)mg/L,相对偏差不超过 $\pm 15\%$ 。

[0107] 4.精密密度:批内变异系数 $CV \leq 5.0\%$ ($n=10$);

[0108] 批间相对极差 $R \leq 8.0\%$ 。

[0109] 5.准确度:测定结果的均值应在靶值的 $\pm 15\%$ 范围内。

[0110] 上述试剂盒为下列各实施例中所使用的柏荣诊断 $\beta 2$ -微球蛋白测定试剂盒,使用时直接在上述试剂盒R1中加入一定量的KPS(过硫酸钾)作为实验组试剂1,配套上述试剂盒中R2作为实验组,按照柏荣诊断 $\beta 2$ -微球蛋白测定试剂盒说明书(上述摘录)提供的检测方法,与其它现有的试剂进行对比,其他厂家试剂也分别按照各自说明书提供的检测方法进行上机测定。空白组使用的是柏荣诊断 $\beta 2$ -微球蛋白测定试剂盒,未加入KPS。

[0111] 实施例1:

[0112] 在现有柏荣诊断 $\beta 2$ -微球蛋白测定试剂盒(注册证号:沪械注册20162400105)试剂1中加入KPS至终浓度为1mmol/L(下称“实验1”);对照组(下称“空白”)为不加入KPS的试剂(现售试剂);以及宁波上市公司A的试剂1和北京上市公司B的试剂1;

[0113] 测试空白组以及实验1的线性范围,即使用接近或者超过线性范围上限的样本梯度稀释成至少6个样本,根据稀释比例标注理论浓度,使用空白组和实验1分别测试这些样本,得到实测值,将理论浓度作为X轴,实测浓度作为Y轴,在Excel中绘制散点图,添加线性趋势线,并显示公式和系数。将理论浓度带入回归公式得到估计值,计算实测值与估计值的偏差。

[0114] 测试所有试剂在0.3mg/L浓度时的精密密度;即重复测定10次,用Excel计算均值,标准差(STDEV),计算精密密度 $CV (STDEV/Mean)$

[0115] 并用空白组和实验1进行平行临床比对,即空白组和实验1定标后,在相同仪器上同时测定同一批临床样本(至少40例浓度在线性范围内均匀分布的);将空白对照试剂测定结果作为Y轴,实验1测定结果作为X轴,在Excel中绘制散点图,添加线性趋势线,并显示公式和系数。

[0116] 抗原过剩测试,取用超过250mg/L浓度的样本,进行梯度稀释成多个样本,根据稀释比例计算理论值,使用空白组和实验1试剂测试这些样本,得到实测值,比较实测值和理论值以及线性范围上限,得出抗原过剩范围是否合格。

[0117] 存储稳定性观察,将实验1试剂 $2^{\circ}C \sim 8^{\circ}C$ 密封条件下留样做长期观察。

[0118] 具体如下表3-9所示。

[0119] 表3实施例1上机参数对照表

[0120]

上机参数 Hitachi7180				
试剂厂家	样本量 (μL)	试剂 1 (μL)	试剂 2 (μL)	线性上限 mg/L
空白	3	240	60	24
实验 1	3	240	60	24
上市公司 A	3	240	60	18

[0121]

上市公司 B	3	240	60	18
--------	---	-----	----	----

[0122] 表4实施例1定标数据对照表

[0123]

定标数据							
空白	浓度 (mg/L)	0	0.6	3	6	12	24
	ΔABS	21	355	2382	4837	8932	14233
实验 1	浓度 (mg/L)	0	0.6	3	6	12	24
	ΔABS	16	755	3011	5632	9115	14032
上市公司 A	浓度 (mg/L)	0	0.6	3	6	12	18
	ΔABS	-12	221	1083	1932	2673	2945
上市公司 B	浓度 (mg/L)	0	0.6	2.13	6.4	12.7	20.9
	ΔABS	-60.5	101	398	1917	4442	5980

[0124] 表5空白与实验1的线性范围测试对照表

[0125]

线性范围测试							
空白线性	理论浓度 (mg/L)	0.25	1	5	10	15	25
	实测浓度 (mg/L)	0.24	1.03	5.17	10.33	15.32	24.88
	估算浓度 (mg/L)	0.385675	1.1344	5.1276	10.1191	15.1106	25.0936
	偏差	-0.145675	-0.1044	0.83%	2.08%	1.39%	-0.85%
	合格范围	绝对值小于 0.2	绝对值小于 0.2	<10%	<10%	<10%	<10%
实验 1 线性	理论浓度 (mg/L)	0.25	1	5	10	15	25
	实测浓度 (mg/L)	0.27	1.05	5.12	10.17	15.23	24.94
	估算浓度 (mg/L)	0.351825	1.1007	5.0947	10.0872	15.0797	25.0647
	偏差	-0.081825	-0.0507	0.50%	0.82%	1.00%	-0.50%
	合格范围	绝对值小于 0.2	绝对值小于 0.2	<10%	<10%	<10%	<10%

[0126] 表6实施例1各厂家精密度对照表

[0127]

0.3mg/L 精密度				
	空白	实验 1	上市公司 A	上市公司 B
次数 1	0.25	0.29	0.22	0.41
次数 2	0.27	0.33	0.36	0.23
次数 3	0.24	0.3	0.23	0.17
次数 4	0.28	0.31	0.33	0.28
次数 5	0.31	0.34	0.25	0.45
次数 6	0.29	0.33	0.19	0.32
次数 7	0.33	0.32	0.33	0.26
次数 8	0.37	0.31	0.28	0.35

[0128]

次数 9	0.28	0.29	0.37	0.38
次数 10	0.24	0.28	0.26	0.2
mean	0.286	0.31	0.282	0.305
STDEV	0.0414	0.0200	0.0623	0.0928
CV	14.48%	6.45%	22.10%	30.42%

[0129] 表7空白与实验1的临床比对表

[0130]

临床比对实验 1 (x) 单位 mg/L		
标本号	空白	实验 1
1	0.96	0.96
2	1.12	1.20
3	1.14	1.14
4	1.2	1.27
5	1.22	1.22
6	1.28	1.28
7	1.47	1.47
8	1.56	1.56
9	1.74	1.74
10	1.84	1.84
11	2	2.00
12	2.03	2.15
13	2.11	2.11
14	2.14	2.14
15	2.28	2.27
16	2.49	2.48
17	2.6	2.59
18	2.62	2.61
19	2.85	2.84
20	3.78	3.76
21	3.98	4.13
22	4.03	4.01
23	4.16	4.14
24	4.57	4.55
25	4.99	4.97
26	5.19	5.16
27	5.22	5.19
28	7.04	7.00
29	7.08	7.04
30	7.12	7.08
31	7.15	7.11
32	7.23	7.19
33	10.62	10.56
34	11.5	11.43

[0131]	35	12.53	12.82
	36	14.42	14.33
	37	15.01	14.91
	38	15.7	15.60
	39	16.01	15.91
	40	17.06	17.35
	41	15.69	15.59
	42	17.88	17.76
	43	20.35	20.22
	44	22.5	22.35
	45	24.88	24.94

[0132] 表8空白与实验1的抗原过剩测试数据对照表

抗原过剩测试			
理论浓度 (mg/L)	空白	实验 1	
[0133]	10	10.32	10.27
	20	20.15	20.22
	40	29.33	30.18
	80	31.25	32.42
	120	31.44	32.66
	160	31.17	32.55
	200	30.32	31.05
	240	28.45	29.33
	280	26.33	26.45

[0134] 表9空白与实验1的功能灵敏度对照表

[0135]	空白功能灵敏度	浓度 mean	0.07	0.11	0.21	0.29	0.44	0.61
		STDEV	0.0552	0.0409	0.039	0.0414	0.022	0.0111
		CV	78.86%	37.18%	18.57%	14.28%	5.00%	1.82%
[0135]	实验 1 功能灵敏度	浓度 mean	0.06	0.11	0.21	0.31	0.46	0.6
		STDEV	0.0359	0.0203	0.021	0.02	0.0181	0.0093
		CV	59.83%	18.45%	10.00%	6.45%	3.93%	1.55%

[0136] 实验1的试剂2℃~8℃密封条件下存储12个月,外观未见异常。从表4可以看到,实验1的低端灵敏度(0.6mg/L浓度的 Δ ABS)相对KPS加入前的空白试剂(在售试剂)提高了近210%,相对主流上市公司试剂提升了350%-600%。从表6看到,测试尿液临界值0.3mg/L浓度样本精密度(重复性) $<10\%$,满足行业标准;从表5以及图3看到,线性范围测试也能符合产品说明书0.2-24mg/L的要求;从表7以及图4可以看到临床比对相关性 $R>0.9900$, a 值在0.85-1.15范围内,偏差符合要求;从表8看到280mg/L浓度样本时,实验1实测结果仍旧 >24 mg/L的线性上限,抗原过剩范围达到 >250 mg/L要求。从表9看到功能灵敏度(CV=20%)提升到约0.1mg/L左右,小于尿液参考值0.3mg/L,是能够血尿同测的全量程试剂。

[0137] 实施例2:

[0138] 在现有柏荣诊断 β 2-微球蛋白测定试剂盒(注册证号:沪械注册20162400105)试剂

1中加入KPS至终浓度5mmol/L(下称“实验2”);对照组(下称“空白”)为不加入KPS的试剂(现售试剂);以及宁波上市公司A的试剂1和北京上市公司B的试剂1;同实验1的方式测试0.3mg/L浓度精密度,线性范围测试,临床比对,抗原过剩测试,存储稳定性观察。如下表10-16所示。

[0139] 表10实施例2上机参数对照表

上机参数 Hitachi7180				
试剂厂家	样本量 (μL)	试剂 1 (μL)	试剂 2 (μL)	线性上限 mg/L
空白	3	240	60	24
实验 2	3	240	60	24
上市公司 A	3	240	60	18
上市公司 B	3	240	60	18

[0141] 表11实施例2的定标数据对照表

定标数据							
空白	浓度 (mg/L)	0	0.6	3	6	12	24
	ΔABS	21	355	2382	4837	8932	14233
实验 2	浓度 (mg/L)	0	0.6	3	6	12	24
	ΔABS	13	1025	3472	5899	9404	14011
上市公司 A	浓度 (mg/L)	0	0.6	3	6	12	18
	ΔABS	-12	221	1083	1932	2673	2945
上市公司 B	浓度 (mg/L)	0	0.6	2.13	6.4	12.7	20.9
	ΔABS	-60.5	101	398	1917	4442	5980

[0143] 表12实验2的线性范围测试表

实 验 2 线 性	理论浓度	0.25	1	5	10	15	25
	实测浓度	0.24	1.02	4.99	10.07	15.01	24.73
	估算浓度	0.302775	1.0458	5.0086	9.9621	14.9156	24.8226
	偏差	-0.062775	-0.0258	-0.37%	1.08%	0.63%	-0.37%
	合格范围	绝对值小于 0.2	绝对值小于 0.2	<10%	<10%	<10%	<10%

[0145] 表13实验2各厂家精密度对照表

0.3mg/L 精密度				
	空白	实验 2	上市公司 A	上市公司 B
次数 1	0.25	0.31	0.22	0.41
次数 2	0.27	0.32	0.36	0.23

[0147]	次数 3	0.24	0.3	0.23	0.17
	次数 4	0.28	0.29	0.33	0.28
	次数 5	0.31	0.3	0.25	0.45
	次数 6	0.29	0.29	0.19	0.32
	次数 7	0.33	0.29	0.33	0.26
	次数 8	0.37	0.32	0.28	0.35
	次数 9	0.28	0.32	0.37	0.38
	次数 10	0.24	0.29	0.26	0.2
	mean	0.286	0.303	0.282	0.305
	STDEV	0.0414	0.0134	0.0623	0.0928
	CV	14.48%	4.41%	22.10%	30.42%

[0148] 表14空白与实验2临床比对表

临床比对实施例 2 (x)			
标本号	空白	实验 2	
1	0.96	0.98	
2	1.12	1.25	
3	1.14	1.16	
4	1.2	1.32	
5	1.22	1.24	
6	1.28	1.30	
7	1.47	1.54	
8	1.56	1.57	
9	1.74	1.75	
10	1.84	1.85	
11	2	2.01	
12	2.03	2.19	
13	2.11	2.12	
[0149]	14	2.14	2.15
	15	2.28	2.29
	16	2.49	2.61
	17	2.6	2.60
	18	2.62	2.62
	19	2.85	2.85
	20	3.78	3.85
	21	3.98	4.22
	22	4.03	4.02
	23	4.16	4.31
	24	4.57	4.55
	25	4.99	4.97
	26	5.19	5.25
	27	5.22	5.20
	28	7.04	6.89
	29	7.08	7.04

[0150]	30	7.12	7.24
	31	7.15	7.11
	32	7.23	7.19
	33	10.62	10.54
	34	11.5	12.05
	35	12.53	13.05
	36	14.42	14.31
	37	15.01	14.89
	38	15.7	15.57
	39	16.01	16.35
	40	17.06	17.58
	41	15.69	15.56
	42	17.88	17.73
	43	20.35	20.18
	44	22.5	22.31
	45	24.88	24.73

[0151] 表15空白与实验2的抗原过剩测试数据对照表

抗原过剩测试			
理论浓度 (mg/L)	空白	实验 2	
[0152]	10	10.32	10.02
	20	20.15	19.95
	40	29.33	29.52
	80	31.25	31.05
	120	31.44	32.05
	160	31.17	32.13
	200	30.32	31.43
	240	28.45	29.63
	280	26.33	27.08

[0153] 表16实验2的功能灵敏度对照表

[0154]	实验 2 功能 灵敏度	浓度 mean	0.05	0.1	0.21	0.3	0.46	0.62
		STDEV	0.0302	0.0163	0.0152	0.0134	0.0121	0.0091
		CV	60.40%	16.30%	7.24%	4.47%	2.63%	1.47%

[0155] 实验2的试剂2℃~8℃密封条件下存储12个月,外观未见异常。从表4可以看到,实验1的低端灵敏度(0.6mg/L浓度的 Δ ABS)相对KPS加入前的空白试剂(在售试剂)提高了近210%,相对主流上市公司试剂提升了350%-600%。从表6看到,测试尿液临界值0.3mg/L浓度样本精密度的(重复性) $<10\%$,满足行业标准;从表5以及图3看到,线性范围测试也能符合产品说明书0.2-24mg/L的要求;从表7以及图4可以看到临床比对相关性 $R>0.9900$,a值在0.85-1.15范围内,偏差符合要求;从表8看到280mg/L浓度样本时,实验1实测结果仍旧 $>24\text{mg/L}$ 的线性上限,抗原过剩范围达到 $>250\text{mg/L}$ 要求。从表9看到功能灵敏度(CV=20%)提升到约0.1mg/L左右,小于尿液参考值0.3mg/L,是能够血尿同测的全量程试剂。

[0156] 实施例3:

[0157] 在现有柏荣诊断 β 2—微球蛋白测定试剂盒(注册证号:沪械注册20162400105)试剂1中加入KPS至终浓度10mmol/L(下称“实验3”);对照为不加入的试剂(下称空白);以及宁波上市公司A的试剂1和北京上市公司B的试剂1;同实验1的方式测试0.3mg/L浓度精密度,线性范围测试,临床比对,抗原过剩测试,存储稳定性观察。

[0158] 表17实施例3的上机参数对照表

上机参数 Hitachi7180				
试剂厂家	样本量 (μ L)	试剂 1 (μ L)	试剂 2 (μ L)	线性上限 mg/L
柏荣诊断	3	240	60	24
实验 3	3	240	60	24
上市公司 A	3	240	60	18
上市公司 B	3	240	60	18

[0160] 表18实施例3的定标数据对照表

定标数据							
空白	浓度 (mg/L)	0	0.6	3	6	12	24
	Δ ABS	21	355	2382	4837	8932	14233
实验 3	浓度 (mg/L)	0	0.6	3	6	12	24
	Δ ABS	31	1203	3672	5985	9474	13983
上市公司 A	浓度 (mg/L)	0	0.6	3	6	12	18
	Δ ABS	-12	221	1083	1932	2673	2945
上市公司 B	浓度 (mg/L)	0	0.6	2.13	6.4	12.7	20.9
	Δ ABS	-60.5	101	398	1917	4442	5980

[0162] 表19实验3的线性范围测试表

实验3 线性	理论浓度	0.25	1	5	10	15	25
	实测浓度	0.25	1.01	5.03	9.99	14.93	24.78
	估算浓度	0.28905	1.0323	4.9963	9.9513	14.9063	24.8163
	偏差	-0.03905	-0.0223	0.67%	0.39%	0.16%	-0.15%
	合格范围	绝对值小于 0.2	绝对值小于 0.2	<10%	<10%	<10%	<10%

[0164] 表20实验3各厂家精密度对照表

[0165] 0.3mg/L 精密度

[0166]

	空白	实验 3	上市公司 A	上市公司 B
次数 1	0.25	0.3	0.22	0.41
次数 2	0.27	0.3	0.36	0.23
次数 3	0.24	0.29	0.23	0.17
次数 4	0.28	0.29	0.33	0.28
次数 5	0.31	0.28	0.25	0.45
次数 6	0.29	0.31	0.19	0.32
次数 7	0.33	0.31	0.33	0.26
次数 8	0.37	0.3	0.28	0.35
次数 9	0.28	0.29	0.37	0.38
次数 10	0.24	0.3	0.26	0.2
mean	0.286	0.297	0.282	0.305
STDEV	0.0414	0.0095	0.0623	0.0928
CV	14.48%	3.19%	22.10%	30.42%

[0167] 表21空白与实验3临床比对表

[0168]

临床比对实施例 3 (x)		
标本号	空白	实验 3
1	0.96	0.94
2	1.12	1.28
3	1.14	1.12
4	1.2	1.35
5	1.22	1.20
6	1.28	1.27
7	1.47	1.58
8	1.56	1.55
9	1.74	1.73
10	1.84	1.95
11	2	2.00
12	2.03	2.28
13	2.11	2.11
14	2.14	2.14
15	2.28	2.41
16	2.49	2.50
17	2.6	2.72
18	2.62	2.63
19	2.85	2.87
20	3.78	3.82
21	3.98	4.41
22	4.03	4.20
23	4.16	4.35
24	4.57	4.62
25	4.99	5.33
26	5.19	5.25

[0169]	27	5.22	5.60
	28	7.04	7.26
	29	7.08	7.42
	30	7.12	7.22
	31	7.15	7.45
	32	7.23	7.63
	33	10.62	11.20
	34	11.5	12.05
	35	12.53	13.92
	36	14.42	15.10
	37	15.01	15.27
	38	15.7	16.33
	39	16.01	16.29
	40	17.06	18.48
	41	15.69	15.96
	42	17.88	18.20
	43	20.35	21.35
	44	22.5	22.91
	45	24.88	24.78

[0170] 表22空白与实验3抗原过剩数据对照表

抗原过剩测试			
理论浓度 (mg/L)	空白	实验 3 抗原过剩	
[0171]	10	10.32	9.88
	20	20.15	20.12
	40	29.33	29.92
	80	31.25	31.45
	120	31.44	31.92
	160	31.17	31.99
	200	30.32	30.42
	240	28.45	28.34
	280	26.33	25.42

[0172] 表23实验3的功能灵敏度对照表

[0173]	实验 3 功能 灵敏度	浓度 mean	0.06	0.1	0.21	0.3	0.45	0.61
		STDEV	0.02	0.0143	0.0112	0.0095	0.0097	0.0088
		CV	33.33%	14.30%	5.33%	3.17%	2.16%	1.44%

[0174] 实验3的试剂2℃~8℃密封条件下存储12个月,外观未见异常。从表4可以看到,实验1的低端灵敏度(0.6mg/L浓度的 Δ ABS)相对KPS加入前的空白试剂(在售试剂)提高了近210%,相对主流上市公司试剂提升了350%-600%。从表6看到,测试尿液临界值0.3mg/L浓度样本精密度(重复性)<10%,满足行业标准;从表5以及图3看到,线性范围测试也能符合产品说明书0.2-24mg/L的要求;从表7以及图4可以看到临床比对相关性 $R>0.9900$, a 值在0.85-1.15范围内,偏差符合要求;从表8看到280mg/L浓度样本时,实验1实测结果仍旧>

24mg/L的线性上限,抗原过剩范围达到>250mg/L要求。从表9看到功能灵敏度(CV=20%)提升到约0.1mg/L左右,小于尿液参考值0.3mg/L,是能够血尿同测的全量程试剂。

[0175] 实施例4:

[0176] 在现有柏荣诊断β2-微球蛋白测定试剂盒(注册证号:沪械注册20162400105)试剂1中加入KPS至终浓度15mmol/L(下称“实验4”);对照为不加入的试剂(下称空白);以及宁波上市公司A的试剂1和北京上市公司B的试剂1;同实验1的方式测试0.3mg/L浓度精密度,线性范围测试,临床比对,抗原过剩测试,存储稳定性观察。部分临床结果偏差超过15%,可能为氧化性过强引起。

[0177] 表24实验4的上机参数对照表

上机参数 Hitachi7180				
试剂厂家	样本量 (μL)	试剂 1 (μL)	试剂 2 (μL)	线性上限 mg/L
空白	3	240	60	24
实验 4	3	240	60	24
上市公司 A	3	240	60	18
上市公司 B	3	240	60	18

[0179] 表25实施例4的定标数据对照表

定标数据							
空白	浓度 (mg/L)	0	0.6	3	6	12	24
	ΔABS	21	355	2382	4837	8932	14233
实验 4	浓度 (mg/L)	0	0.6	3	6	12	24
	ΔABS	75	1303	3752	6002	9483	13999
上市公司 A	浓度 (mg/L)	0	0.6	3	6	12	18
	ΔABS	-12	221	1083	1932	2673	2945
上市公司 B	浓度 (mg/L)	0	0.6	2.13	6.4	12.7	20.9
	ΔABS	-60.5	101	398	1917	4442	5980

[0181] 表26空白与实验4的临床比对数据表

临床比对实施例 4 (x)			
标本号	空白	实验 4	偏差
1	0.96	1.03	7.29%
2	1.12	1.43	27.68%

[0183]

3	1.14	1.30	14.04%
4	1.2	1.55	29.17%
5	1.22	1.36	11.10%
6	1.28	1.51	17.97%
7	1.47	1.72	17.01%
8	1.56	1.72	10.21%
9	1.74	1.91	9.87%
10	1.84	2.12	15.22%
11	2	2.19	9.50%
12	2.03	2.47	21.67%
13	2.11	2.31	9.37%
14	2.14	2.34	9.34%
15	2.28	2.62	14.91%
16	2.49	2.71	9.01%
17	2.6	2.83	8.92%
18	2.62	2.85	8.91%
19	2.85	3.10	8.75%
20	3.78	4.09	8.32%
21	3.98	4.75	19.35%
22	4.03	4.36	8.24%
23	4.16	4.88	17.31%
24	4.57	4.94	8.09%
25	4.99	5.39	8.00%
26	5.19	5.60	7.96%
27	5.22	6.15	17.82%
28	7.04	7.58	7.71%
29	7.08	8.13	14.83%
30	7.12	7.67	7.70%
31	7.15	8.25	15.38%
32	7.23	7.79	7.69%
33	10.62	12.12	14.12%
34	11.5	12.72	10.61%
35	12.53	15.92	27.06%
36	14.42	15.48	7.35%
37	15.01	16.11	7.33%
38	15.7	18.10	15.29%
39	16.01	17.18	7.31%
40	17.06	20.33	19.17%
41	15.69	17.42	11.03%
42	17.88	19.18	7.28%
43	20.35	22.55	10.81%
44	22.5	24.13	7.22%
45	24.88	25.38	2.01%

[0184] 虽然实施例4灵敏度提升与实施例3相当,临床比对相关性也勉强合格,但是众多样本偏差超过15%不符合要求,不能够作为血尿同测的全量程试剂。

[0185] 实施例5:

[0186] 在现有柏荣诊断 β 2-微球蛋白测定试剂盒(注册证号:沪械注册20162400105)试剂1中加入KPS至终浓度30mmol/L;试剂存储过程颜色加深,且定标出现异常,零浓度出现较强非特异反应,不能进行其他实验。

[0187] 实施例6:

[0188] 在现有柏荣诊断 β 2-微球蛋白测定试剂盒(注册证号:沪械注册20162400105)试剂1中加入过硫酸铵至终浓度5mmol/L;试剂各项性能与实施例2类似。但试剂存储过程中灵敏度有逐渐降低趋势,虽然存储到12个月仍然可以使用,但不作为最优方案使用。

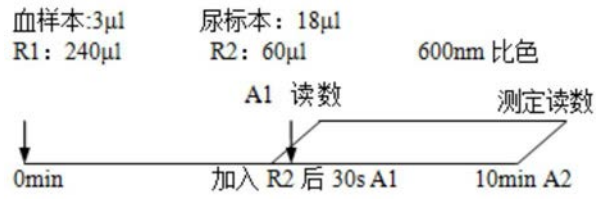


图1

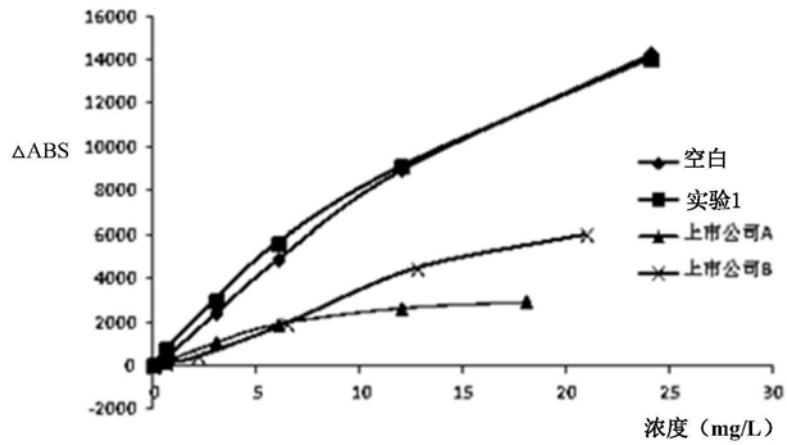


图2

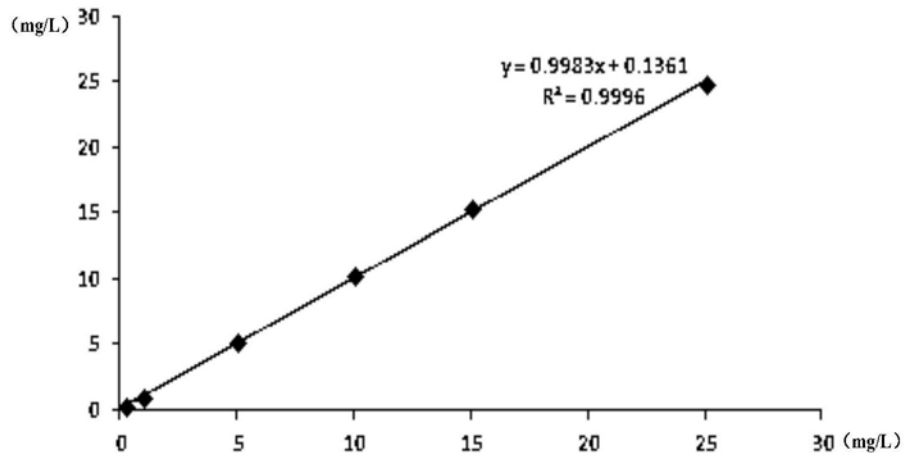


图3

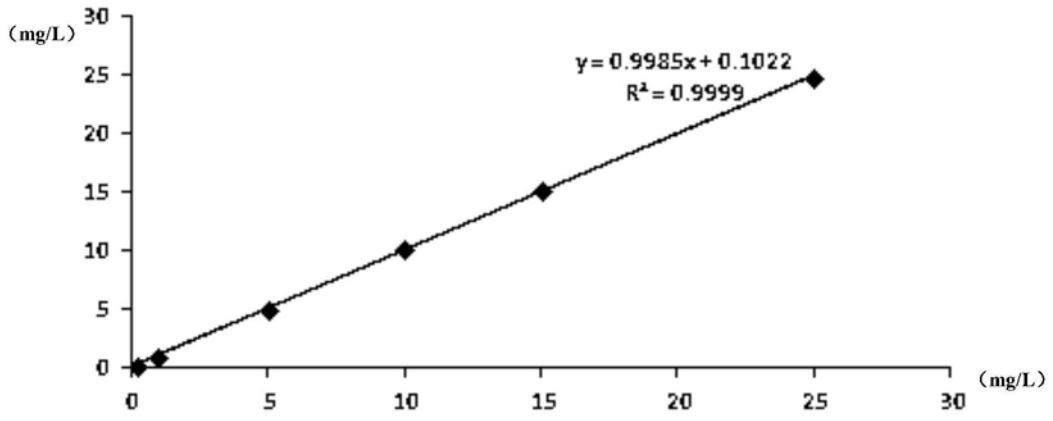


图4

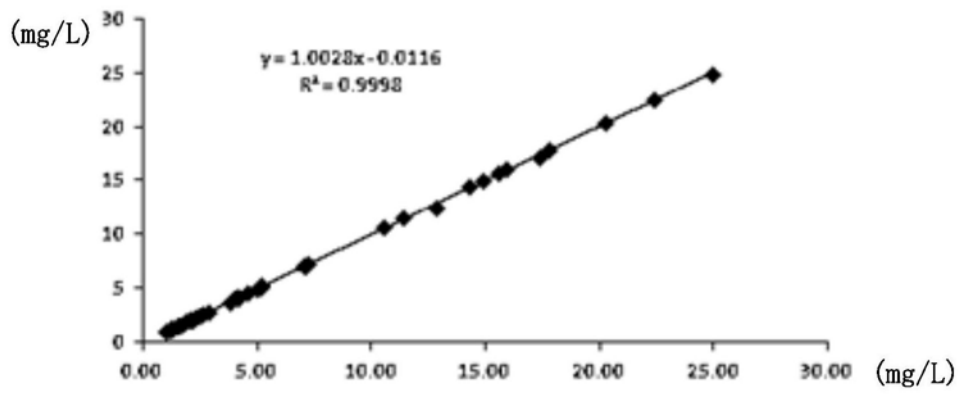


图5

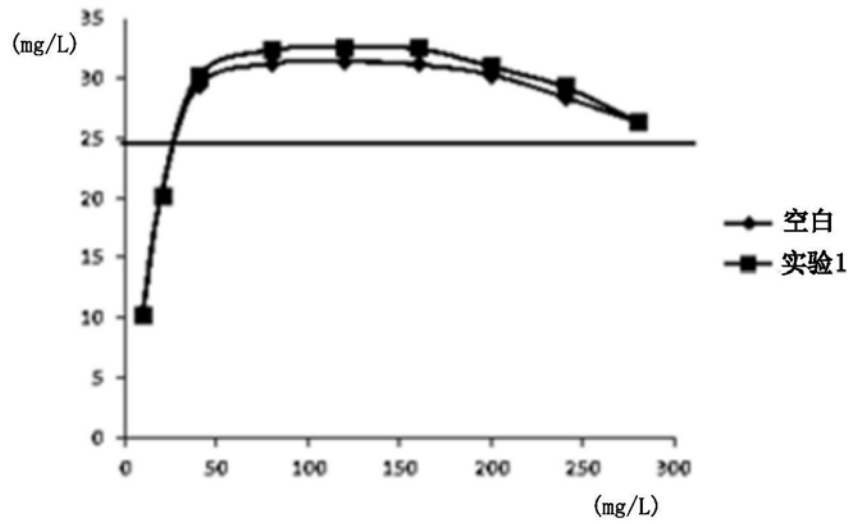


图6

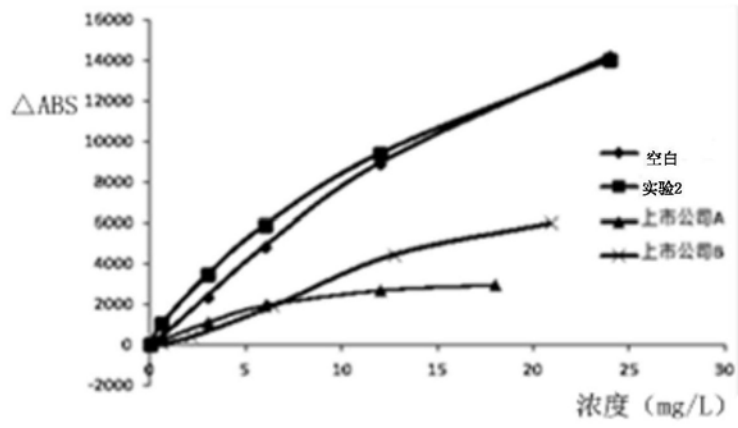


图7

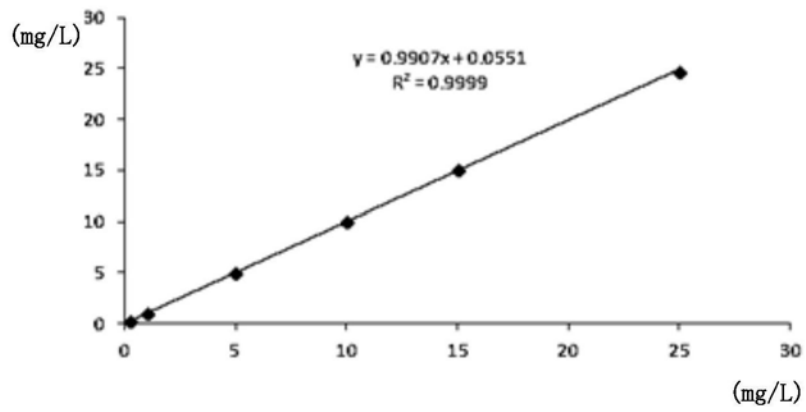


图8

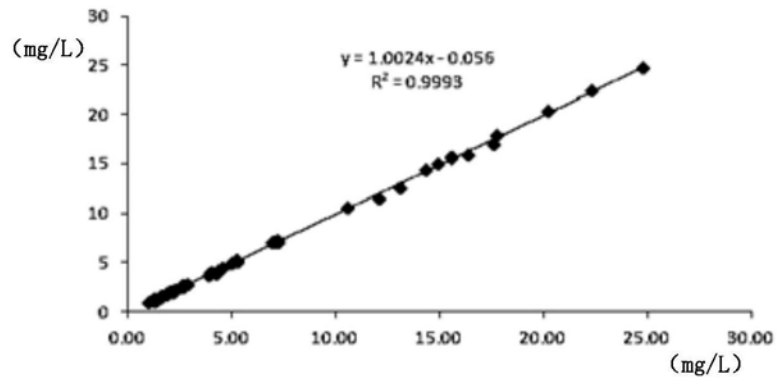


图9

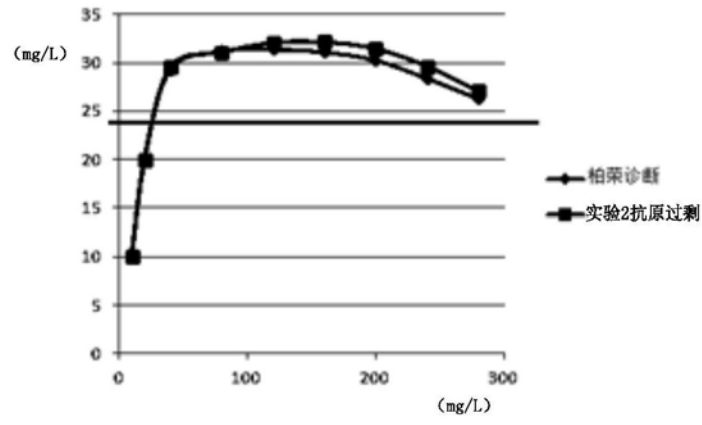


图10

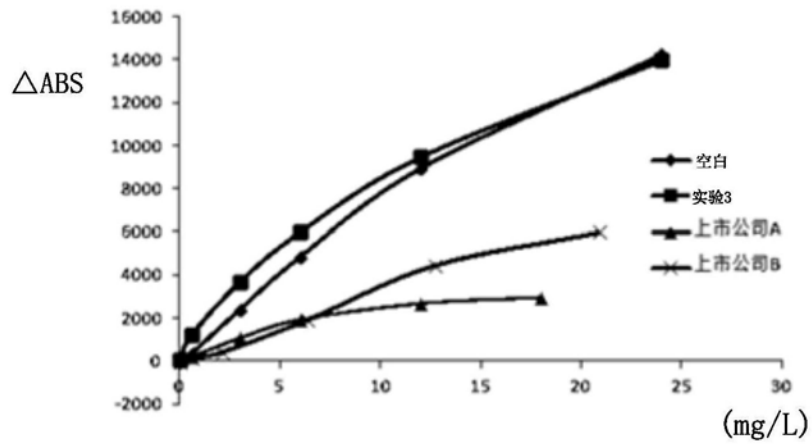


图11

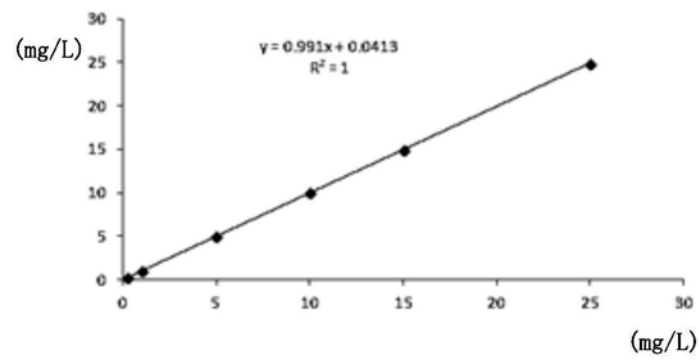


图12

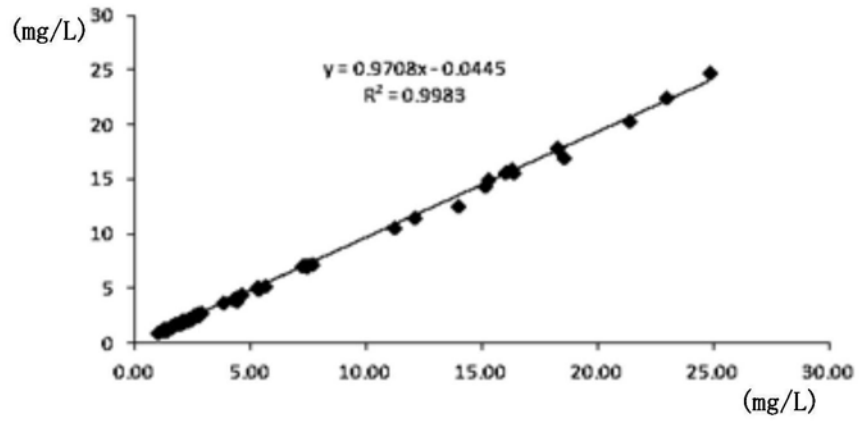


图13

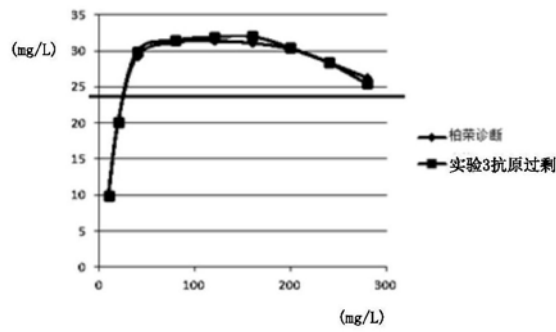


图14

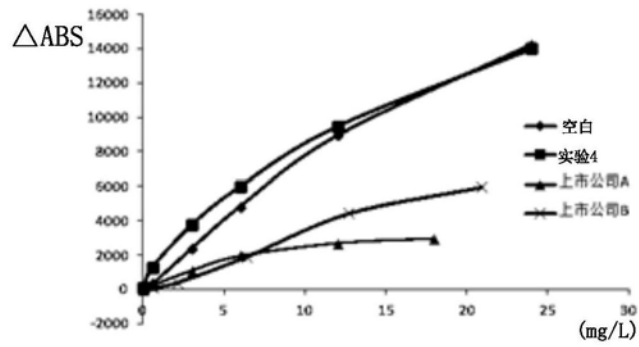


图15

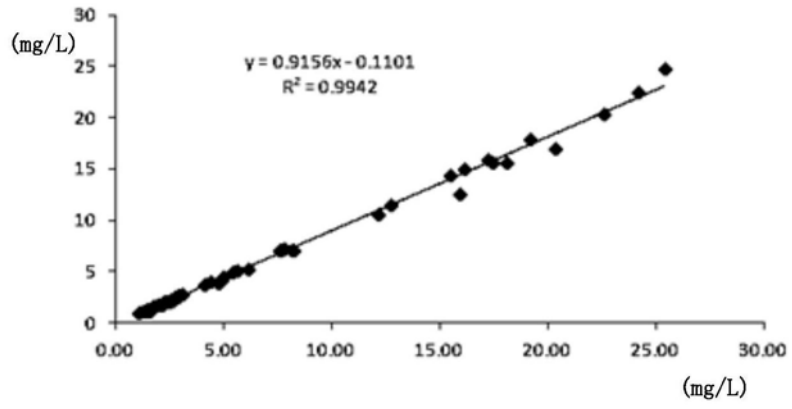


图16

专利名称(译)	一种血尿同测的全量程β2-微球蛋白测定试剂盒		
公开(公告)号	CN107589267B	公开(公告)日	2019-08-02
申请号	CN2017110744877.5	申请日	2017-08-25
[标]申请(专利权)人(译)	柏荣诊断产品(上海)有限公司		
申请(专利权)人(译)	柏荣诊断产品(上海)有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	柏荣诊断产品(上海)有限公司		
[标]发明人	王钊 庞傅		
发明人	王钊 庞傅		
IPC分类号	G01N33/68 G01N33/52 G01N33/531		
代理人(译)	杨军		
审查员(译)	周洋		
其他公开文献	CN107589267A		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明属于生物检测技术领域。为解决现有的β2-微球蛋白试剂盒不能够实现血尿同测的全量程测定的技术问题，本发明提供一种血尿同测的全量程β2-微球蛋白测定试剂盒，试剂盒的试剂1中添加了过硫酸盐，所述过硫酸盐在试剂1中的浓度为1~10mmol/L。本发明相对目前主流试剂，尿液β2-微球蛋白测定线性范围提升3倍以上，大幅度减少需要稀释复检的样本，节约成本；本发明具有采用同一个试剂同一个参数，同一个试剂位，可同时测定血液和尿液中的β2-微球蛋白含量，节约医院仪器试剂位，使用方便的特点。

