



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 109374884 B

(45) 授权公告日 2021. 10. 22

(21) 申请号	201811582626.2	G01N 33/535 (2006.01)
(22) 申请日	2018.12.24	(56) 对比文件
(65) 同一申请的已公布的文献号		CN 101344483 A, 2009.01.14
申请公布号	CN 109374884 A	CN 105510594 A, 2016.04.20
(43) 申请公布日	2019.02.22	CN 108254241 A, 2018.07.06
(73) 专利权人	四川沃文特生物技术有限公司	CN 103472229 A, 2013.12.25
地址	610000 四川省成都市高新区西芯大道6号	CN 107367620 A, 2017.11.21
(72) 发明人	段元安 李玲 杨春兰	US 2014234340 A1, 2014.08.21
(74) 专利代理机构	成都行之专利代理事务所 (普通合伙) 51220	CN 105785054 A, 2016.07.20
代理人	唐邦英	CN 101055271 A, 2007.10.17
(51) Int. Cl.		审查员 陈剑锋
	G01N 33/543 (2006.01)	
	G01N 33/577 (2006.01)	

权利要求书1页 说明书6页

(54) 发明名称
一种PCT浓度检测试剂盒及其制备方法

(57) 摘要
本发明公开了一种PCT浓度检测试剂盒及其制备方法,所述PCT浓度检测试剂盒包括磁珠标记抗体、分析缓冲液、酶结合物和校准品,所述酶结合物中添加氯化钠,所述分析缓冲液中添加铁氰化钾。本发明通过所述酶结合物中添加氯化钠,同时,所述分析缓冲液中添加铁氰化钾,解决了现有PCT试剂盒在检测新鲜样本时抗干扰能力差的问题。

1. 一种PCT浓度检测试剂盒,包括磁珠标记抗体、分析缓冲液、酶结合物和校准品,其特征在于,所述酶结合物中添加氯化钠,所述分析缓冲液中添加铁氰化钾;所述酶结合物中氯化钠的浓度为0.03-0.05g/ml,所述分析缓冲液中铁氰化钾的浓度为0.1g/L。

2. 根据权利要求1所述的一种PCT浓度检测试剂盒,其特征在于,所述校准品中添加酪蛋白或牛血清白蛋白。

3. 根据权利要求2所述的一种PCT浓度检测试剂盒,其特征在于,所述校准品中酪蛋白或牛血清白蛋白的浓度为10mg/ml。

4. 一种如权利要求3所述PCT浓度检测试剂盒的制备方法,其特征在于,包括以下步骤:

- 1)、确定酶结合物中氯化钠的最适宜浓度,并向酶结合物中添加氯化钠;
- 2)、确定分析缓冲液中铁氰化钾的最适宜浓度,并向分析缓冲液中添加铁氰化钾;
- 3)、向校准品中添加酪蛋白或牛血清白蛋白。

5. 根据权利要求4所述PCT浓度检测试剂盒的制备方法,其特征在于,确定酶结合物中氯化钠的浓度的具体步骤为:

a1)、分别称取以下质量的氯化钠:0.10g、0.20g、0.30g、0.40g、0.50g,并将其分别加入到10ml PCT试剂的酶结合物组分中,氯化钠终浓度分别为0.01g/ml、0.02g/ml、0.03g/ml、0.04g/ml、0.05g/ml,与分析缓冲液、磁珠标记抗体组合成PCT检测试剂,分别设置为实验组B、C、D、E、F组,酶结合物组分中未添加氯化钠的PCT检测试剂设置为对照组A组;

b1)、使用A对照组以及B、C、D、E、F实验组试剂在贝克曼全自动化学发光免疫分析仪上检测150例PCT临床新鲜样本;

c1)、将A、B、C、D、E、F组试剂检测临床新鲜样本的结果与罗氏e411临床检验报告结果进行对比分析,获得酶结合物中氯化钠的最适宜浓度为0.03-0.05g/ml。

6. 根据权利要求4所述PCT浓度检测试剂盒的制备方法,其特征在于,确定分析缓冲液中铁氰化钾的浓度的具体步骤为:

a1)、称量0.10g铁氰化钾,将其加入到1000ml的PCT试剂分析缓冲液组分中,最终浓度为0.1g/L,然后与步骤1)获得的酶结合物、磁珠标记抗体组合成PCT检测试剂,设置为实验组II组,同时设置分析缓冲液组分中未添加铁氰化钾的对照组为I组;

b1)、将两组试剂在贝克曼全自动化学发光免疫分析仪上检测398例临床新鲜样本;

c1)、将I、II组的临床新鲜样本检测结果与罗氏e411临床检验报告结果进行对比分析获得分析缓冲液中铁氰化钾的最适宜浓度为0.1g/L。

7. 根据权利要求4所述PCT浓度检测试剂盒的制备方法,其特征在于,步骤3)中向10ml校准品中添加0.10g酪蛋白或牛血清白蛋白。

一种PCT浓度检测试剂盒及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及降钙素原 (PCT) 浓度检测技术领域,具体涉及一种PCT浓度检测试剂盒及其制备方法。

背景技术

[0002] 降钙素原 (procalcitonin, 检测PCT) 是一种由116个氨基酸组成、分子量为13kDa的糖蛋白,是血清降钙素 (CT) 的前体物,在人体内半衰期约为20-24小时,稳定性好。正常条件下,PCT在甲状腺C细胞中生成并裂解成降钙素,人血清PCT含量极低,约2.5pg/ml。当严重细菌、真菌、寄生虫感染以及脓毒症和多脏器功能衰竭时,PCT在血浆中的水平升高。自身免疫、过敏和病毒感染时PCT不会升高。局部有限的细菌感染、轻微的感染和慢性炎症不会导致PCT升高。

[0003] PCT检测试剂盒主要包括磁珠标记抗体、分析缓冲液、酶结合物和校准品。

[0004] 现有的PCT检测试剂盒具有以下缺陷:

[0005] 1、配套使用的校准品试剂一般为冻干粉使用不便,稳定性略差,稀释时可能存在误差或导致污染。

[0006] 2、新鲜样本不同程度干扰导致检测结果存在较大的差异,现有PCT免疫检测试剂检测新鲜样本的抗干扰能力有所欠缺。

发明内容

[0007] 本发明的目的在于提供一种PCT浓度检测试剂盒及其制备方法,解决现有PCT试剂盒在检测新鲜样本时抗干扰能力差的问题。

[0008] 此外,本发明还提供上述检测试剂盒的制备方法。

[0009] 一种PCT浓度检测试剂盒,包括磁珠标记抗体、分析缓冲液、酶结合物和校准品,所述酶结合物中添加氯化钠,所述分析缓冲液中添加铁氰化钾。

[0010] 本发明采用全自动磁微粒化学发光检测方法,按照夹心法原理进行免疫检测。磁微粒上包被生物素抗体,抗体为鼠的单克隆抗体。

[0011] 本发明所述磁珠标记抗体、分析缓冲液、酶结合物和校准品为现有PCT浓度检测试剂盒(沃文特公司生产的试剂盒)中试剂。

[0012] 本发明通过试验证明:向酶结合物中添加氯化钠能够消除临床新鲜样本的检测干扰,向分析缓冲液中添加铁氰化钾能够消除临床新鲜样本的检测干扰,向酶结合物中添加氯化钠,同时向分析缓冲液中添加铁氰化钾,能够有效消除临床新鲜样本的检测干扰。

[0013] 本发明通过所述酶结合物中添加氯化钠,同时,所述分析缓冲液中添加铁氰化钾,解决了现有PCT试剂盒在检测新鲜样本时抗干扰能力差的问题。

[0014] 进一步地,酶结合物中氯化钠的浓度为0.03-0.05g/ml。

[0015] 申请人通过长期试验发现:酶结合物中氯化钠的最佳浓度为0.03-0.05g/ml。

[0016] 其中,优选为0.03g/ml,防止盐离子浓度过高抑制抗原抗体免疫反应及利于节约

氯化钠。

[0017] 进一步地,分析缓冲液中铁氰化钾的浓度为0.1g/L。

[0018] 申请人通过长期试验发现:分析缓冲液中铁氰化钾的最佳浓度为0.1g/L。

[0019] 进一步地,酶结合物中氯化钠的浓度为0.03-0.05g/ml,所述分析缓冲液中铁氰化钾的浓度为0.1g/L。

[0020] 进一步地,校准品中添加酪蛋白或牛血清白蛋白。

[0021] 本发明通过向10ml校准品中添加0.10g酪蛋白或牛血清白蛋白,能够明显提高校准品稳定性。

[0022] 其中,添加酪蛋白的效果最佳。

[0023] 进一步地,校准品中酪蛋白或牛血清白蛋白的浓度为10mg/ml。

[0024] 一种PCT浓度检测试剂盒的制备方法,包括以下步骤:

[0025] 1)、确定酶结合物中氯化钠的最适宜浓度,并向酶结合物中添加氯化钠;

[0026] 2)、确定分析缓冲液中铁氰化钾的最适宜浓度,并向分析缓冲液中添加铁氰化钾;

[0027] 3)、向校准品中添加酪蛋白或牛血清白蛋白。

[0028] 进一步地,确定酶结合物中氯化钠的浓度的具体步骤为:

[0029] a1)、分别称取以下质量的氯化钠:0.10g、0.20g、0.30g、0.40g、0.50g,并将其分别加入到10ml PCT试剂的酶结合物组分中,氯化钠终浓度分别为0.01g/ml、0.02g/ml、0.03g/ml、0.04g/ml、0.05g/ml,与分析缓冲液、磁珠标记抗体组合成PCT检测试剂,分别设置为实验组B,C,D,E,F组,酶结合物组分中未添加氯化钠的PCT检测试剂设置为对照组A组;

[0030] b1)、使用A对照组以及B、C、D、E、F实验组试剂在贝克曼全自动化学发光免疫分析仪上检测150例PCT临床新鲜样本;

[0031] c1)、将A、B、C、D、E、F组试剂检测临床新鲜样本的结果与罗氏e411临床检验报告结果进行对比分析,获得酶结合物中氯化钠的最适宜浓度为0.03-0.05g/ml。

[0032] 进一步地,确定分析缓冲液中铁氰化钾的浓度的具体步骤为:

[0033] a1)、称量0.10g铁氰化钾,将其加入到1000ml的PCT试剂分析缓冲液组分中,最终浓度为0.1g/L,然后与步骤1)获得的酶结合物、磁珠标记抗体组合成PCT检测试剂,设置为实验组II组,同时设置分析缓冲液组分中未添加铁氰化钾的对照组为I组;

[0034] b1)、将两组试剂在贝克曼全自动化学发光免疫分析仪上检测398例临床新鲜样本;

[0035] c1)、将I、II组的临床新鲜样本检测结果与罗氏e411临床检验报告结果进行对比分析获得分析缓冲液中铁氰化钾的最适宜浓度为0.1g/L。

[0036] 进一步地,步骤3)中向10ml校准品中添加0.10g酪蛋白或牛血清白蛋白。

[0037] 本发明与现有技术相比,具有如下的优点和有益效果:

[0038] 1、本发明通过所述酶结合物中添加氯化钠,同时,所述分析缓冲液中添加铁氰化钾,解决了现有PCT试剂盒在检测新鲜样本时抗干扰能力差的问题。

[0039] 2、本发明通过向10ml校准品中添加0.10g酪蛋白或牛血清白蛋白,能够明显提高校准品稳定性。

具体实施方式

[0040] 为使本发明的目的、技术方案和优点更加清楚明白,下面结合实施例,对本发明作进一步的详细说明,本发明的示意性实施方式及其说明仅用于解释本发明,并不作为对本发明的限定。

[0041] 实施例1:

[0042] 一种PCT浓度检测试剂盒,包括磁珠标记抗体、分析缓冲液、酶结合物和校准品,所述酶结合物中添加氯化钠,所述分析缓冲液中添加铁氰化钾;所述酶结合物中氯化钠的浓度为0.03g/ml,所述分析缓冲液中铁氰化钾的浓度为0.1g/L。

[0043] 实施例2:

[0044] 一种PCT浓度检测试剂盒,包括磁珠标记抗体、分析缓冲液、酶结合物和校准品,所述酶结合物中添加氯化钠,所述分析缓冲液中添加铁氰化钾;所述酶结合物中氯化钠的浓度为0.04g/ml,所述分析缓冲液中铁氰化钾的浓度为0.1g/L。

[0045] 实施例3:

[0046] 一种PCT浓度检测试剂盒,包括磁珠标记抗体、分析缓冲液、酶结合物和校准品,所述酶结合物中添加氯化钠,所述分析缓冲液中添加铁氰化钾;所述酶结合物中氯化钠的浓度为0.05g/ml,所述分析缓冲液中铁氰化钾的浓度为0.1g/L。

[0047] 实施例4:

[0048] 一种PCT浓度检测试剂盒,包括磁珠标记抗体、分析缓冲液、酶结合物和校准品,所述酶结合物中添加氯化钠,所述分析缓冲液中添加铁氰化钾;所述酶结合物中氯化钠的浓度为0.05g/ml,所述分析缓冲液中铁氰化钾的浓度为0.1g/L;所述校准品中添加酪蛋白,所述校准品中酪蛋白的浓度为10mg/ml。

[0049] 实施例5:

[0050] 一种PCT浓度检测试剂盒,包括磁珠标记抗体、分析缓冲液、酶结合物和校准品,所述酶结合物中添加氯化钠,所述分析缓冲液中添加铁氰化钾;所述酶结合物中氯化钠的浓度为0.05g/ml,所述分析缓冲液中铁氰化钾的浓度为0.1g/L;所述校准品中添加牛血清白蛋白,所述校准品中牛血清白蛋白的浓度为10mg/ml。

[0051] 一种实施例4或实施例5所述PCT浓度检测试剂盒的制备方法,包括以下步骤:

[0052] 1)、确定酶结合物中氯化钠的最适宜浓度,并向酶结合物中添加氯化钠,确定酶结合物中氯化钠的浓度的具体步骤为:

[0053] a1)、分别称取以下质量的氯化钠:0.10g、0.20g、0.30g、0.40g、0.50g,并将其分别加入到10ml PCT试剂的酶结合物组分中,氯化钠终浓度分别为0.01g/ml、0.02g/ml、0.03g/ml、0.04g/ml、0.05g/ml,与分析缓冲液、磁珠标记抗体组合成PCT检测试剂,分别设置为实验组B,C,D,E,F组,酶结合物组分中未添加氯化钠的PCT检测试剂设置为对照组A组;

[0054] b1)、使用A对照组以及B、C、D、E、F实验组试剂在贝克曼全自动化学发光免疫分析仪上检测150例PCT临床新鲜样本;

[0055] c1)、将A、B、C、D、E、F组试剂检测临床新鲜样本的结果与罗氏e411临床检验报告结果进行对比分析,获得酶结合物中氯化钠的最适宜浓度为0.03-0.05g/ml;

[0056] 对比结果如表1、表2所示:

[0057] 表1

[0058]

统计分析	A 组	B 组	C 组	D 组	E 组	F 组
相关系数 (R^2)	0.983	0.986	0.987	0.987	0.987	0.987
干扰例数	15	12	6	2	2	2
干扰比率	10%	8%	4%	1.3%	1.3%	1.3%

[0059] 表2

样本号	罗氏试剂盒测	A 组	B 组	C 组	D 组	E 组	F 组	
定值 (ng/ml)								
Y 007	0.06		1.75	1.08	0.64	0.10	0.09	0.07
Y 019	0.03		1.20	0.97	0.15	0.09	0.07	0.05
Y 024	0.12		2.57	1.82	1.41	1.36	1.18	0.92
Y 032	0.14		1.42	0.98	0.22	0.17	0.16	0.19
Y 041	0.10		1.57	0.82	0.54	0.13	0.15	0.12
Y 047	0.04		0.98	0.16	0.12	0.09	0.06	0.06
Y 057	0.03		0.84	0.75	0.10	0.11	0.08	0.04
Y 063	0.08		0.79	0.51	0.14	0.12	0.09	0.06
Y 068	0.12		1.22	0.67	0.18	0.16	0.17	0.12
Y 079	0.17		1.74	0.16	0.15	0.14	0.10	0.09
Y 082	0.05		1.36	0.92	0.85	0.72	0.79	0.66
Y 092	0.09		1.89	1.23	0.20	0.13	0.10	0.08
Y 105	0.07		1.42	0.14	0.13	0.11	0.09	0.06
Y 127	0.11		2.48	1.83	0.62	0.17	0.15	0.12
Y 142	0.03		1.76	0.83	0.57	0.10	0.08	0.06

[0061] 2)、确定分析缓冲液中铁氰化钾的最适宜浓度,并向分析缓冲液中添加铁氰化钾,确定分析缓冲液中铁氰化钾的浓度的具体步骤为:

[0062] a1)、称量0.10g铁氰化钾,将其加入到1000ml的PCT试剂分析缓冲液组分中,最终浓度为0.1g/L,然后与步骤1)获得的酶结合物、磁珠标记抗体组合成PCT检测试剂,设置为实验组 II 组,同时设置分析缓冲液组分中未添加铁氰化钾的对照组为I组;

[0063] b1)、将两组试剂在贝克曼全自动化学发光免疫分析仪上检测398例临床新鲜样本;

[0064] c1)、将I、II组的临床新鲜样本检测结果与罗氏e411(第三方检测)临床检验报告

结果进行对比分析获得分析缓冲液中铁氰化钾的最适宜浓度为0.1g/L;

[0065] 对比结果如表3、表4所示:

[0066] 表3

统计分析	I 组	II 组
相关系数 (R^2)	0.986	0.991
干扰例数	5	0
干扰比率	1.3%	0%

[0067]

[0068] 表4

样本号	罗氏试剂盒测	I 组	II 组
定值 (ng/ml)			
S 021	0.12	0.91	0.13
S 077	0.11	1.59	0.18
S 163	0.06	0.96	0.09
S 219	0.17	1.65	0.16
S 308	0.08	1.22	0.10

[0069]

[0070] 3)、使用万分之一天平分别称取0.10g的酪蛋白与BSA,分别加入10ml校准品S1、S3、S5中,并设置为实验组b、c组,未添加其他物质的校准品设置为对照组a组;将每组校准品分为两份,一份于-20℃保存,一份于37℃恒温箱保存;使用相同试剂在贝克曼全自动化学发光免疫分析仪(ACCESS2)上检测第1天、第3天、第6天的校准品稳定性;统计分析实验结果,对比3组校准品的稳定性,得出实验结论。

[0071] 试验结果如表5至表7所示:

[0072] 表5 a组校准品信号保留率

校准品	1 天	3 天	6 天
S1	92.55%	88.39%	87.01%
S3	90.61%	87.36%	85.47%
S5	93.28%	88.29%	86.64%

[0073]

[0074] 表6 b组(酪蛋白)校准品信号保留率

[0075]	校准品	1 天	3 天	6 天
	S1	93.65%	96.39%	93.18%
	S3	95.96%	95.94%	94.28%
	S5	102.08%	94.18%	93.58%

[0076] 表7 c组 (BSA) 校准品信号保留率

[0077]	校准品	1 天	3 天	6 天
	S1	94.52%	92.13%	90.69%
	S3	95.86%	93.33%	89.35%
	S5	97.22%	91.79%	91.96%

[0078] 通过以上三个实验,证明在沃文特PCT测定试剂盒酶结合物组分中加入0.03-0.05g/ml氯化钠以及在分析缓冲液组分中添加0.1g/L的铁氰化钾氧化剂可以有效消除临床新鲜样本的检测干扰。另外,在校准品中加入终浓度为10mg/ml酪蛋白可以明显提高校准品稳定性。

[0079] 以上所述的具体实施方式,对本发明的目的、技术方案和有益效果进行了进一步详细说明,所应理解的是,以上所述仅为本发明的具体实施方式而已,并不用于限定本发明的保护范围,凡在本发明的精神和原则之内,所做的任何修改、等同替换、改进等,均应包含在本发明的保护范围之内。