



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 113125692 A

(43)申请公布日 2021.07.16

(21)申请号 201911404005.X

G01N 21/82(2006.01)

(22)申请日 2019.12.30

(71)申请人 深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司

地址 518057 广东省深圳市南山区高新技术产业园区科技南十二路迈瑞大厦

(72)发明人 黄斌 丁俊 张裕平

(74)专利代理机构 北京派特恩知识产权代理有限公司 11270

代理人 李昂 张颖玲

(51)Int.Cl.

G01N 33/53(2006.01)

G01N 1/34(2006.01)

G01N 1/40(2006.01)

G01N 21/31(2006.01)

权利要求书1页 说明书8页 附图1页

(54)发明名称

消除免疫透射比浊法中免疫复合物干扰的方法、试剂盒及检测方法

(57)摘要

本申请公开了一种消除免疫透射比浊法中免疫复合物干扰的方法、试剂盒及检测方法。其中用于免疫透射比浊法的样本预处理方法包括以下步骤：将含有沉淀剂的预处理试剂与样本混合得到混合液；和对所述混合液离心，取上清液作为待测试样。本发明的预处理方法避免了稀释法带来的测试样中被测物浓度过低，导致无法测出，或者稀释倍数不足导致测试不准确的问题，且不对后续检测产生影响。

1. 一种用于免疫透射比浊法的样本预处理方法,所述方法包括以下步骤:将含有沉淀剂的预处理试剂与样本混合得到混合液;和  
对所述混合液离心,取上清液作为待测试样,以去除样本中本身含有的免疫复合物。
2. 根据权利要求1所述的样本预处理方法,其中所述沉淀剂为聚乙二醇,优选所述聚乙二醇的分子量为2000~35000,更优选所述聚乙二醇的分子量为4000~20000。
3. 根据权利要求1或2所述的样本预处理方法,其中所述预处理试剂为含有30~300g/L的所述沉淀剂的溶液。
4. 根据权利要求3所述的样本预处理方法,其中所述混合步骤包括:将所述预处理试剂与所述样本以体积比为预处理试剂:样本=(0.1~2):1的比例进行混合。
5. 根据权利要求3所述的样本预处理方法,其中所述溶液为水溶液。
6. 根据权利要求5所述的样本预处理方法,其中所述沉淀剂在所述水溶液中的浓度为30~100g/L,优选为40~80g/L,更优选为50~70g/L。
7. 根据权利要求6所述的样本预处理方法,其中所述混合步骤包括将所述预处理试剂与所述样本以体积比为预处理试剂:样本=(0.5~2):1的比例进行混合,优选地所述体积比为预处理试剂:样本=(0.5~1):1。
8. 根据权利要求1或2所述的样本预处理方法,其中所述方法进一步包括在进行所述混合步骤之前,识别样本中是否存在免疫复合干扰物的步骤。
9. 根据权利要求1或2所述的样本预处理方法,其中所述免疫透射比浊法为对选自C-反应蛋白、IgA、IgG、IgM、C3、C4、前白蛋白、载脂蛋白A1、载脂蛋白B、载脂蛋白E、转铁蛋白、触珠蛋白和铜蓝蛋白中的一种被测物进行检测的方法。
10. 一种试剂盒,所述试剂盒用于免疫透射比浊法的检测,其中所述试剂盒包括样本预处理试剂和反应试剂,其中所述样本预处理试剂包括沉淀剂用以去除样本中本身含有的干扰被测物检测的免疫复合干扰物,所述反应试剂包括能与所述被测物特异性结合并形成免疫复合物的抗体或抗原,以及使所述免疫复合物聚集的免疫复合物聚集剂。
11. 一种利用免疫透射比浊法检测样本中被测物的方法,所述方法包括用权利要求1~9中任一项所述的样本预处理方法对所述样本进行预处理,以提供待测试样的步骤。
12. 根据权利要求11所述的检测样本中被测物的方法,其中所述方法进一步包括使所述待测试样与反应试剂反应,并检测反应体系的吸光度。

## 消除免疫透射比浊法中免疫复合物干扰的方法、试剂盒及检测方法

### 技术领域

[0001] 本申请涉及免疫透射比浊检测方法,特别涉及消除免疫复合物对检测干扰的方法。

### 背景技术

[0002] 免疫透射比浊法是免疫检测中常用的一种方法。其检测的反应原理为:试剂中的抗体与样本中的抗原反应,形成免疫复合物,在聚乙二醇或其他沉淀剂作用下,从液体中析出,使反应体系浑浊,通过测定体系的光学特性,如吸光度,可由浑浊程度求得样本中抗原的浓度。

[0003] 在检测中,往往出现因抗原和抗体的比例不合适,而导致检测结果偏低,甚至出现假阴性的情况。以抗原过量为例,以抗体-抗原沉淀的量相对于抗原的量作图时,在抗原量增大的一端出现偏离正常曲线的钩状(HOOK)曲线的现象被称为钩状效应。钩状效应是由于待测的抗原或抗体的量大大过剩时,出现了可溶性复合物,导致检测结果的偏差。对于这种情况,往往采取对样本进行事先稀释的方法,以获得准确结果。

[0004] 此外,样本中还可能存在本身就含有免疫复合物的情况。对于样本中存在的免疫复合物为包含被测物的情况,通常采用解离剂来处理样本,使复合物中的抗原和抗体分开,再进行测试。

[0005] 然而,对于样本中存在非被测物的免疫复合物的情况,却鲜少被关注。当样本与检测试剂混合后,检测试剂中的免疫复合物聚集试剂(如聚乙二醇)同样会使样本中的非被测物免疫复合物发生沉淀,从而对检测结果造成干扰。使用解离剂在一定程度上可避免样本中本身含有免疫复合物影响测试的情况,但是加入解离剂一方面可能破坏蛋白结构,对被测物的进一步检测造成影响;另一方面,解离剂在测试时会进一步被检测试剂稀释,而本已解离的抗原抗体又会重新结合在一起。特别是对于干扰物较多的情况,解离剂并不能很好地消除其影响。

[0006] 对于本身存在免疫复合物干扰的样本,传统方法是对样本进行稀释后再测试。但是有时由于需要稀释几倍甚至十倍以上才能消除干扰,造成稀释后样本浓度降低到检测系统的检测范围以下,结果也同样不准确;有时被测物浓度较低,仅几倍的稀释就会造成被测物浓度低于检测范围,造成结果不准确。

[0007] 因此,仍需要一种能有效消除样本本身存在免疫复合物干扰的检测方法。

### 发明内容

[0008] 因此,本发明的目的在于提供一种有效消除样本本身存在免疫复合物干扰的方法,该方法不影响被测物的检测,特别是对于含低浓度被测物的样本,与传统的稀释法相比,该方法不影响最低检测限,能够获得更为准确的结果。

[0009] 为此,本发明的第一方面提供一种用于免疫透射比浊法的样本预处理方法,所述

方法包括以下步骤:将含有沉淀剂的预处理试剂与样本混合得到混合液;和对所述混合液离心,取上清液作为待测试样。

[0010] 根据本发明的具有实施方式,所述沉淀剂为聚乙二醇(PEG)。根据优选的实施方式,所述聚乙二醇的分子量为2000~35000的聚乙二醇,更优选所述聚乙二醇的分子量为4000~20000。

[0011] 可用于对样本进行预处理的所述预处理试剂可以是固体形式或溶液形式。

[0012] 对于所述预处理试剂为固体形式的情况,所述沉淀剂也是以固体形式包含在预处理试剂中。在该情况下,所述预处理试剂以固体形式直接添加至样本中,或者可事先用少量溶剂使所述预处理试剂溶解后再与所述样本混合。以固体形式添加时,沉淀剂的添加量可以为使最终混合后的样本中含有20~50g/L的沉淀剂。

[0013] 较优地,所述预处理试剂为溶液形式。在该实施方式中,所述沉淀剂可以以任何合适的方式存在于所述预处理试剂中。例如,沉淀剂可以为悬浮的固体微粒形式,悬浮的乳胶粒形式或溶解的形式包含在所述预处理试剂中。

[0014] 考虑预处理试剂与样本混合均匀所需时间长短的问题,优选所述沉淀剂溶解在所述预处理试剂中。以溶液形式将预处理试剂与样本混合能够使沉淀剂快速均匀分散在样本中,可以节省检测所需的时间,简化操作步骤。

[0015] 根据一种具体的实施方式,所述预处理试剂为含有30~300g/L的所述沉淀剂的溶液。

[0016] 用于形成所述溶液的溶剂是对后续检测不产生不利影响的聚乙二醇的良溶剂。具体地,所述溶剂可以是选自水、乙醇、丙醇、异丙醇中的一种或多种,优选为水。

[0017] 在该实施方式中,所述混合步骤包括将所述预处理试剂以体积比为预处理试剂:样本=(0.1~2):1的比例与所述样本混合。优选地将所述预处理试剂以所述体积比为预处理试剂:样本=(0.2~1):1的比例与所述样本混合。

[0018] 本发明的预处理试剂可以以固体或以较少的量的溶液形式添加到样本中,对样本不产生稀释作用或以低倍数稀释,因而对于被测物含量较低的样本也不会影响检测的检测限和准确性。

[0019] 此外,预处理试剂中含有的沉淀剂聚乙二醇本身,也是后续检测步骤中所需的被测物免疫复合物的聚集剂和沉淀剂,因此即便样本中含有未去除的聚乙二醇,也不会对后续检测结果产生不利影响。

[0020] 根据一种最佳的实施方式,所述预处理试剂为含有所述沉淀剂的水溶液。

[0021] 在该实施方式中,所述沉淀剂溶解在水中形成浓度适中的水溶液。其中所述沉淀剂在所述水溶液中的浓度为30~100g/L,优选为40~80g/L,更优选为50~70g/L。

[0022] 当所述沉淀剂在水溶液中的浓度在上述范围中时,所述预处理试剂仍可以以较小的体积比与所述样本混合,从而不会对样本造成过度稀释。此外,沉淀剂为上述浓度时,将水溶液形式的预处理试剂与样本混合,能快速达到均匀混合,并使沉淀剂快速与干扰物结合并沉淀。

[0023] 较佳地,所述混合步骤包括将所述预处理试剂以体积比为预处理试剂:样本=(0.5~2):1的比例与所述样本混合。优选地将所述预处理试剂以体积比为预处理试剂:样本=(0.5~1):1的比例与所述样本混合。根据更优的实施方式,可以将所述预处理试剂与

样本以体积比为1:1的比例进行混合。

[0024] 本发明的溶液形式的预处理试剂除了以水溶液的形式存在外,根据另一实施方式,还可以以浓缩液的形式存在,以进一步降低对样本预处理时的稀释作用。在该实施方式中,使聚乙二醇以较高的浓度溶解在溶剂中。所述溶剂如以上所定义。其中所述聚乙二醇可以以100~300g/L的浓度存在,优选以100~250g/L,更优选以150~250g/L的浓度存在。

[0025] 所述预处理试剂中的沉淀剂与样本中的干扰物(即样本本身含有的免疫复合物)形成沉淀,待反应完全后,通过离心将形成沉淀的干扰物除去。离心可在常规条件下进行,根据样本的不同情况,可以在5000g~20000g离心5~20分钟。

[0026] 离心后弃去沉淀物,取上清液作为待测试剂。

[0027] 根据一种实施方式,本发明的样本预处理方法可进一步包括在进行所述混合步骤之前,识别样本本身是否存在干扰物即免疫复合物的步骤。

[0028] 可以采用任何适宜的常规方法来识别样本中是否存在免疫复合干扰物。通常,在正常的检测过程中,可以结合样本的具体情况,通过监测被测试样与反应试剂在反应过程中的吸光度变化曲线来判断样本中是否存在干扰被测物的免疫复合干扰物。

[0029] 常见的适用于本发明的对样本进行预处理的方法的被测物可以是选自C-反应蛋白、IgA、IgG、IgM、C3、C4、前白蛋白、载脂蛋白A1、载脂蛋白B、载脂蛋白E、转铁蛋白、触珠蛋白、铜蓝蛋白中的一种,但不限于此。包含上述被测物的样本中存在免疫复合干扰物的情况较为常见,往往发生检测结果不准确的情况。

[0030] 本发明的第二方面提供一种试剂盒,所述试剂盒用于免疫透射比浊法的检测。所述试剂盒包括样本预处理试剂和反应试剂,其中所述样本预处理试剂包括沉淀剂用以去除样本中本身含有的干扰被测物检测的免疫复合干扰物,所述反应试剂包括能与所述被测物特异性结合并形成免疫复合物的抗体或抗原,以及使所述免疫复合物聚集的免疫复合物聚集剂。

[0031] 所述试剂盒中的所述样本预处理试剂可为前文所定义的任意一种预处理试剂。

[0032] 根据较优的实施方式,所述预处理试剂中的所述沉淀剂含有第一聚乙二醇,优选为的所述第一聚乙二醇的分子量为2000~35000,更优选所述第一聚乙二醇的分子量为4000~20000。

[0033] 所述试剂盒中,所述预处理试剂可为含有30~300g/L的所述沉淀剂的溶液。用于形成所述溶液的溶剂可以是选自水、乙醇、丙醇、异丙醇中的一种或多种,优选为水。

[0034] 根据较优的实施方式,所述溶液为水溶液。所述沉淀剂在所述水溶液中的浓度为30~100g/L,优选为40~80g/L,更优选为50~70g/L。

[0035] 在该实施方案中,所述样本预处理试剂可进一步包括等渗剂、防腐剂、表面活性剂和/或缓冲剂。

[0036] 本发明对于等渗剂、防腐剂、表面活性剂和缓冲剂没有特别限制。可根据具体的样本、检测对象、检测设备等要求进行添加。用于所述样本预处理试剂中的缓冲液、等渗剂、表面活性剂和防腐剂可采用本领域常规使用的那些,只要对所述沉淀剂及后续检测没有负面影响即可。

[0037] 举例来说,缓冲液可使用Tris缓冲液、Mopso缓冲液、咪唑缓冲液、磷酸缓冲液、碳酸缓冲液、苹果酸缓冲液、甘氨酸缓冲液,但不限于此。缓冲液的用量可根据不同缓冲剂种

类以及所需的pH值确定。而预处理试剂的pH值可为4~10。举例来说,Tris缓冲液的浓度为可为0.1M。

[0038] 等渗剂可为盐类,如氯化钠,但不限于此。通常等渗剂的用量可为使溶液具有生理盐水的离子强度。

[0039] 表面活性剂可选自Tween、SPAN、曲拉通、EMULGEN系列表面活性剂(如吐温20、吐温40和曲拉通100)以及月桂酸聚乙二醇甘油酯、阴离子烷基多苷、甜菜碱类中的一种或几种,但不限于此。不同表面活性剂的用量可不同。举例来说,Tween20表面活性剂的浓度可为0.05%。

[0040] 防腐剂可选自叠氮钠、苯酚、对羟基苯甲酸、苯甲酸、苯甲酸钠、山梨酸、山梨酸钾、丙酸钙、二甲苯酚、尼泊金酯、高锰酸盐、抗生素类(如庆大霉素、二氯乙酰胺、SUPELCO公司推出的ProClin系列等)、对羟基苯甲酸乙酯和乙基汞硫代硫酸钠中的一种或几种,但不限于此。防腐剂的用量没有特别限制,通常为0.01%~0.1%。

[0041] 所述试剂盒可有利地用于对选自CRP、IgA、IgG、IgM、C3、C4、前白蛋白、载脂蛋白A1、载脂蛋白B、载脂蛋白E、转铁蛋白、触珠蛋白和铜蓝蛋白中的一种被测物进行检测。

[0042] 在所述试剂盒中,所包括的反应试剂,针对不同的被测物而不同,可根据被测物进行相应的选择。本发明的试剂盒对于反应试剂没有特别限定,任何已知采用免疫比浊透射法检测上述被测物的反应试剂均可使用。

[0043] 常规地,反应试剂中包含可与被测物特异性结合以形成特定的免疫复合物的抗体或者抗原,以及能够使所形成的免疫复合物聚集的免疫复合物聚集剂以在反应体系中形成悬浮物,从而能够从反应体系的吸光度变化上反映出样本中被测物的浓度。

[0044] 在一些情况下,所述反应试剂可为单个试剂,也就是说,可与被测物特异性结合的抗体或者抗原以及免疫复合物聚集剂可以包含在一个试剂中;在另一些情况下,所述反应试剂可为两个试剂,即可与被测物特异性结合的抗体或者抗原以及免疫复合物聚集剂分别包含在两个试剂中;或者,根据具体需要,所述反应试剂也可包含更多个(如三个)试剂。

[0045] 其中能与被测物特异性结合的抗体或者抗原根据被测物的不同而不同。例如,对于C反应蛋白(CRP)来说,能与被测物特异性结合的抗体或者抗原可以是CRP单抗,CRP多抗,CRP抗血清等。对于前白蛋白(PA)来说,能与被测物特异性结合的抗体或者抗原可以是PA单抗,PA多抗,PA抗血清等。用于被测物的特异性抗体或抗原是本领域所熟知的,在此不再一一赘述。

[0046] 所述免疫复合物聚集剂包括第二聚乙二醇。在本发明中,该第二聚乙二醇可以与上述第一聚乙二醇相同,也可以不同。该第二聚乙二醇选自分子量为2000~35000,优选4000~20000范围内的一种或多种聚乙二醇。该第二聚乙二醇起到使被测试样中的反应形成的被测物免疫复合物聚集并形成悬浮颗粒的作用,从而能够根据对反应体系检测到的吸光度变化计算出被测物的浓度。

[0047] 通常来说,所述反应试剂中还可包含常规使用的其他试剂,例如:抗干扰剂、保护剂、等渗剂、防腐剂、表面活性剂、缓冲剂等等,但不限于此。这些试剂可为常规使用的适宜试剂,在此不再赘述。

[0048] 通常来说,包含免疫复合物聚集剂的反应试剂中的组分较为复杂,而用于本发明预处理的样本预处理试剂的组分较为简单。最简单的情况下,所述预处理试剂可为仅含沉

淀剂(如PEG)的水溶液。通常情况下可进一步含有等渗剂、缓冲剂和防腐剂中的一种或多种。

[0049] 根据本发明的第三方面,提供一种利用免疫透射比浊法检测样本中被测物的方法,所述方法包括用上述样本预处理方法对所述样本进行预处理以提供待测试样的步骤。

[0050] 此外,所述方法进一步包括使所述待测试样与反应试剂反应并检测反应体系的吸光度。

[0051] 对待测试样进行检测的步骤为本领域的常规方法,在此不再赘述。

[0052] 本发明的预处理方法避免了稀释法带来的测试样中被测物浓度过低,导致无法测出,或者稀释倍数不足导致测试不准确的问题。本发明的预处理剂中的聚乙二醇本身就是免疫透射比浊法检测中的必要反应试剂,且能以较少的体积加入样本中,因而不仅能够有效除去样本中存在的免疫复合物,且不对后续检测产生影响。

### 附图说明

[0053] 图1为实施例1中未经预处理的样本1与反应试剂混合前后的吸光度变化的图;

[0054] 图2为实施例1中经预处理后的样本1与反应试剂混合前后的吸光度变化的图;和

[0055] 图3为实施例3中采用生理盐水以样本:生理盐水=1:4的比例稀释后的样本10与反应试剂混合前后的吸光度变化的图。

### 具体实施方式

[0056] 下面将结合本发明具体实施例及附图,对本发明的技术方案进行清楚、完整地描述,显然,所描述的实施例仅是本发明的一部分实施方式,而不是全部的实施方式。基于本发明中的实施方式,本领域普通技术人员在没有作出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施方式,都属于本发明保护的范围。

[0057] 在整个说明书中,除非另有特别说明,本文使用的术语应理解为如本领域中通常所使用的含义。因此,除非另有定义,本文使用的所有技术和科学术语具有与本发明所属领域技术人员的一般理解相同的含义。若存在矛盾,本说明书优先。

[0058] 本文中术语“免疫复合物”指抗体和抗原特异性结合形成的复合物。

[0059] 本文中术语“免疫复合干扰物”特别指非被测物的抗原和抗体特异性结合形成的免疫复合物,该免疫复合物如不被事先消除,将在免疫透射比浊法中干扰对被测物的检测。

[0060] 本文中术语“被测物免疫复合物”特别指作为被测物的抗原与其特异性抗体结合形成的免疫复合物,在免疫透射比浊法中通过聚集剂使该免疫复合物形成沉淀悬浮于被测体系中,并进一步通过光学检测(如检测体系的吸光度)获得被测物的相关信息(例如,被测物在样本中的浓度)。相应的,若形成的免疫复合物的成分中,不含有被测物,则在本文中称为“非被测物免疫复合物”,也称为“免疫复合干扰物”。

[0061] 实施例1:

[0062] 按照PEG6000浓度为70g/L、氯化钠浓度为9g/L,以水为溶剂配制本发明的预处理试剂。

[0063] 用某市售CRP免疫比浊法检测试剂盒在迈瑞BS-800检测仪上进行以下检测。

[0064] 首先,筛选存在免疫复合干扰物的样本。挑选外观正常的样本,用上述CRP免疫比浊法检测试剂盒进行检测。检测按照说明书进行,检测中,试剂盒中的试剂R1(即含PEG 6000的试剂)首先与样本混合,然后再加入试剂R2(含有CRP特异性抗体)混合。挑选反应曲线在试剂R1与样本混合后出现大幅抬高(参见图1)的样本作为本实施例的样本。共挑选得到样本1~4。

[0065] 图1以样本1为例说明此类样本直接进行检测时吸光度变化情况。这样的样本中因含有免疫复合干扰物,因此开始时反应腔室中仅存在试剂R1(含PEG)时,吸光度几乎为0,而在加入样本后,样本中的免疫复合物开始与试剂R1中的PEG结合产生悬浮的颗粒,并随孵育时间延长进一步聚集导致吸光度不断升高。进一步加入试剂R2(主要含有可与CRP特异性结合的抗体)后,由于试剂R2起到一定的稀释作用,且体系中被测物CRP的浓度相比于干扰物的浓度过低,特异性的免疫反应被稀释作用掩盖,可以看到吸光度反而有一个显著下降,并随混合均匀进一步下降。

[0066] 将筛选好的样本1~4分别进行以下测试:各样本直接用上述CRP免疫比浊法检测试剂盒进行检测,作为“未经处理”组;按以下方法对各样本分别进行预处理,然后用上述CRP免疫比浊法检测试剂盒进行检测,作为“经预处理”组;并用罗氏CRPL3试剂盒以胶乳增强免疫比浊法进行检测,作为“参考浓度”组。由于罗氏胶乳增强免疫比浊法的试剂中不含PEG或其他沉淀剂,因此不会受血清中免疫复合物影响(但检测成本高),其检测结果作为参考浓度。

[0067] 经预处理组:将样本与预处理试剂按1:1混匀,静置10分钟,10000g离心10分钟,取上清,作为待测试样,仍用上述试剂盒按说明书进行测试。测试结果乘以2,为样本浓度结果。

[0068] 进一步参考图2,其中示出了经上述预处理后的样本1按同样的方法检测时吸光度的变化情况。其中,当试剂R1和经上述预处理后的试样混合后,出现较低且平稳的吸光度;进一步加入试剂R2后,被测物(CRP)开始与特异性抗体进行反应,并进一步与试剂R1中的PGE形成悬浮的颗粒,导致吸光度增加。该测量曲线的变化反映出,经预处理后的试样,表现出正常的无干扰检测的情况。

[0069] 检测结果见下表1。

[0070] 表1:

样本编号	参考浓度 (mg/L)	未经处理 (mg/L)	经预处理 (mg/L)
1	2.5	0	2.6
2	11.6	0	11.2
3	56.5	12.1	53.8
4	69.5	13.7	66.4

[0072] 由上述可见,未经处理的样本出现反应曲线异常(如图1所示),导致结果偏低(表1中未经处理组的检测结果大大低于参考浓度组的检测结果),而经本发明的预处理后,检测结果与参考浓度组的检测结果大体一致,大大提高了检测的准确度。

[0073] 实施例2

[0074] 按照PEG6000浓度为50g/L、氯化钠浓度为9g/L,以水为溶剂配制本发明的预处理试剂。



[0075] 用某市售的IgA免疫比浊法检测试剂盒在迈瑞BS-800检测仪上进行以下检测。

[0076] 首先,按照实施例1类似的方法筛选样本。同样挑选样本外观正常,但反应曲线在该IgA免疫比浊法检测试剂盒中的试剂R1(即含PEG6000的试剂)与样本混合后出现反应曲线(吸光度)大幅抬高的样本作为本实施例的样本。共筛选得到具有不同IgA浓度的样本5~8。

[0077] 将筛选好的样本5~8分别进行以下测试:对各样本直接用上述IgA免疫比浊法检测试剂盒进行检测,作为“未经处理”组;按与实施例1中相同的预处理方法对各样本分别进行预处理,然后用上述IgA免疫比浊法检测试剂盒进行检测,作为“经预处理”组;对各样本直接用罗氏IgA试剂盒进行检测,作为“参考浓度”组。由于罗氏IgA试剂盒具有较高的灵敏度且由于血清中含量IgA较高,采用罗氏检测试剂检测样本时,预先对样本进行21倍稀释,测试结果受干扰程度小,故可作为参照试剂,其检测结果作为参考浓度。检测结果见下表2。

[0078] 表2:

样本编号	参考浓度(g/L)	未经处理(g/L)	经预处理(g/L)
5	1.98	1.35	1.96
6	2.73	0	2.61
7	3.26	0	3.38
8	5.39	3.76	5.17

[0080] 未处理组由于受到干扰,样本5和8,出现偏低结果,而样本6和7因干扰严重造成结果偏低过多,出现检测仪报零的结果。

[0081] 实施例3

[0082] 按照PEG20000浓度为60g/L、叠氮钠浓度为0.9g/L,以水为溶剂配制本发明的预处理试剂。

[0083] 用某市售CRP免疫比浊法检测试剂盒在迈瑞BS-800检测仪上进行以下检测。

[0084] 按照实施例1类似的方法筛选样本。共筛选得到具有不同CRP浓度的样本9~12。

[0085] 将筛选好的样本9~12分别进行以下测试:将样本分别用生理盐水以1:4、1:6、1:8和1:10的不同比例稀释得到待测试样,然后用相同的CRP免疫比浊法检测试剂盒进行检测,作为“稀释”组,测试结果分别乘以5、7、9和11作为各稀释组的检测结果;按与实施例1中的预处理方法相同的方法对各样本分别进行预处理,然后用上述CRP免疫比浊法检测试剂盒进行检测,作为“经预处理”组;并用罗氏CRPL3试剂盒以胶乳增强免疫比浊法进行检测,作为“参考浓度”组。

[0086] 图3示出了检测得到的由以样本10:生理盐水为1:4的体积比稀释后得到待测试样的吸光度的变化情况的图。其中最初将试剂R1(含有PEG6000)加入到反应腔室中开始检测,此时吸光度很低。接着在该反应腔室中加入稀释后的待测试样,可以看到体系吸光度立即升高,并随混合有所下降。这是试剂R1中PEG迅速与仍然存在于试样中的免疫复合干扰物反应的结果,但随着孵育时间延长,试剂中的其他成分如表面活性剂对免疫复合物起到一定的分散作用(生理盐水稀释后的样本10中的免疫复合物,没有样本1中多,因此分散作用掩盖了聚合作用),并少量复合物发生解聚,因而吸光度逐渐下降。最后进一步加入试剂R2(含有特异性抗体),体系吸光度立即进一步下降,这是由于进一步加入反应试剂2后,对于免疫复合干扰物来说,进一步被稀释,且该稀释作用起主要作用,而被测物浓度较低,与特异性

抗体的反应反而被稀释作用掩盖。最终,由于反应曲线异常,导致检测仪报零。

[0087] 将全部检测结果汇总于下表3。

[0088] 表3:

样本编号	参考浓度 (mg/L)	1:4稀释 (mg/L)	1:6稀释 (mg/L)	1:8稀释 (mg/L)	1:10稀释 (mg/L)	经预处理 (mg/L)
9	2.6	0	0	0	0	2.6
10	5.7	0	3.6	0	0	5.6
11	9.8	9.0	9.1	8.1	0	9.5
12	19.9	15.5	18.9	19.8	18.7	19.4

[0090] 表中的稀释比为样本与生理盐水的体积比(例如1:4稀释,为样本与生理盐水的体积比1:4)。

[0091] 由上表可见,稀释必然地降低了检测的灵敏度。对于CRP浓度较低的样本,稀释比例较高则导致结果报零(例如样本9、10以1:8和1:10的比例稀释,以及样本11以1:10的比例稀释)。从表3所示的实验结果来看,样本9中CRP浓度过低,以1:4的比例稀释后,浓度更低,出现检测仪报零。样本10以1:4的比例稀释后,反应曲线仍异常(参见图3),出现检测仪报零。样本10以1:6的比例稀释后,样本9和10中的免疫复合干扰物浓度较低,因而反应曲线基本正常,但样本9由于本身浓度较低,出现检测仪报零,而样本10则由于灵敏度低,结果偏差较大。而1:8和1:10稀释的结果,反应曲线基本正常,但报零严重。而采用本发明的方法进行预处理后,各样本的检测结果则与参考浓度组的检测结果基本一致。

[0092] 以上所述仅为本发明的优选实施方式,并非因此限制本发明的专利范围,凡是在本发明的发明构思下,利用本发明说明书及附图内容所作的等效结构变换,或直接/间接运用在其他相关的技术领域均包括在本发明的专利保护范围内。

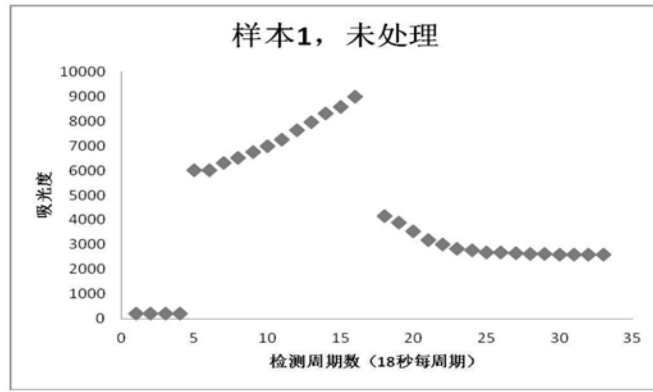


图1

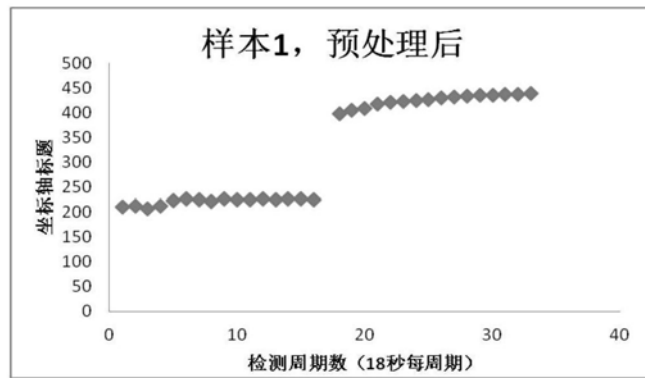


图2

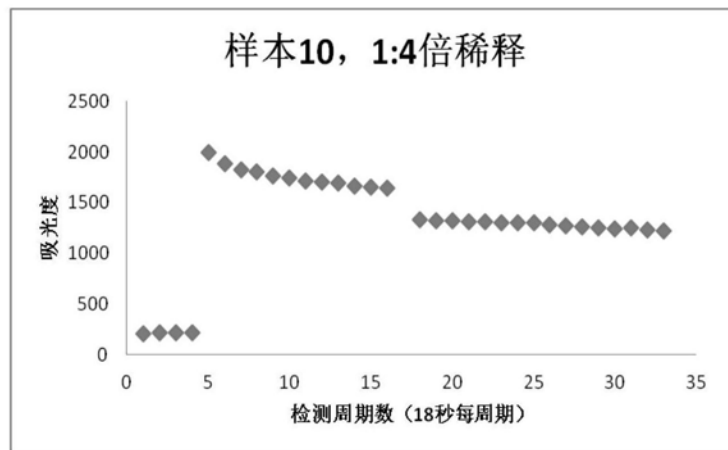


图3