



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 111948405 B

(45) 授权公告日 2023.09.12

(21) 申请号 202010848257.8

G01N 33/574 (2006.01)

(22) 申请日 2020.08.21

G01N 33/531 (2006.01)

G01N 33/53 (2006.01)

(65) 同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 111948405 A

(56) 对比文件

US 2019242891 A1, 2019.08.08

CN 102128923 A, 2011.07.20

CN 106124775 A, 2016.11.16

CN 101337071 A, 2009.01.07

(43) 申请公布日 2020.11.17

(73) 专利权人 广州市米基医疗器械有限公司

地址 510000 广东省广州市番禺区番禺大道北555号番禺节能科技园内天安科技创新大厦209

张秀明 等. 第六节 血清/尿液免疫固定电泳操作程序.《临床生物化学检验质量管理与标准操作程序》.人民军医出版社, 2010,

(72) 发明人 陈岡

审查员 赵晓明

(74) 专利代理机构 北京细软智谷知识产权代理

有限责任公司 11471

专利代理师 刘静培

(51) Int. Cl.

G01N 33/68 (2006.01)

权利要求书2页 说明书23页

(54) 发明名称

免疫球蛋白重链-轻链检测试剂盒及其使用方法

(57) 摘要

本发明涉及一种免疫球蛋白重链-轻链检测试剂盒及其使用方法,所述试剂盒包括固定液、重链多克隆抗体和轻链多克隆抗体,通过涉及人体中免疫球蛋白全部类型、结合型轻链与游离轻链,不仅能检测IgG- κ 、IgG- λ 、IgA- κ 、IgA- λ 、IgM- κ 、IgM- λ 、IgD- κ 、IgD- λ 、IgE- κ 、IgE- λ ,还能检测Kappa型和Lambda型。通过选择可特异性结合的多位点多克隆抗体,特异性强,特异性结合位点多,亲和力好,效价高,且选取兔抗血清稳定性好,能大大提高检测免疫球蛋白免疫异常增生不同突变结合位点,同时还能降低其他病变干扰物影响,灵敏度高,操作简便,检测率高,费用低廉,便于自动化,适合临床检测应用。

1. 一种免疫球蛋白重链-轻链检测试剂盒,其特征在于,包括固定液、重链多克隆抗体和轻链多克隆抗体;

所述固定液包括如下组分:50-70重量份的三氯乙酸、10-20重量份的二水合2-羟基-5-磺基苯甲酸、10-40重量份的缓冲液;所述固定液中的缓冲液的pH为7.5,所述缓冲液为磷酸缓冲液、Tris缓冲液中的任一种;

所述重链多克隆抗体包括:IgG抗体组、IgA抗体组、IgM抗体组、IgD抗体组和IgE抗体组;

所述IgG抗体组的原料组成:35-50重量份的兔抗人IgG多克隆抗体、50-65重量份的抗体稳定剂和0.01-1重量份的复合指示剂;

所述IgA抗体组的原料组成:35-50重量份的兔抗人IgA多克隆抗体、50-65重量份的抗体稳定剂和0.01-1重量份的复合指示剂;

所述IgM抗体组的原料组成:35-50重量份的兔抗人IgM多克隆抗体、50-65重量份的抗体稳定剂和0.01-1重量份的复合指示剂;

所述IgD抗体组的原料组成:35-50重量份的兔抗人IgD多克隆抗体、50-65重量份的抗体稳定剂和0.01-1重量份的复合指示剂;

所述IgE抗体组的原料组成:35-50重量份的兔抗人IgE多克隆抗体、50-65重量份的抗体稳定剂和0.01-1重量份的复合指示剂;

所述轻链多克隆抗体包括:Kappa抗体组、Kappa游离抗体组、Lambda抗体组和Lambda游离抗体组;

所述Kappa抗体组的原料组成:35-50重量份的兔抗人Kappa多克隆抗体、50-65重量份的抗体稳定剂和0.01-1重量份的复合指示剂;

所述Kappa游离抗体组的原料组成:35-50重量份的兔抗人Kappa游离多克隆抗体、50-65重量份的抗体稳定剂和0.01-1重量份的复合指示剂;

所述Lambda抗体组的原料组成:35-50重量份的兔抗人Lambda多克隆抗体、50-65重量份的抗体稳定剂和0.01-1重量份的复合指示剂;

所述Lambda游离抗体组的原料组成:35-50重量份的兔抗人Lambda游离多克隆抗体、35-65重量份的抗体稳定剂和0.01-1重量份的复合指示剂;

所述IgG抗体组中,所述兔抗人IgG多克隆抗体的目标浓度 $\geq 4.2\text{g/L}$;

所述IgA抗体组中,所述兔抗人IgA多克隆抗体的目标浓度 $\geq 3.6\text{g/L}$;

所述IgM抗体组中,所述兔抗人IgM多克隆抗体的目标浓度 $\geq 3.7\text{g/L}$;

所述IgD抗体组中,所述兔抗人IgD多克隆抗体的目标浓度 $\geq 1.5\text{g/L}$;

所述IgE抗体组中,所述兔抗人IgE多克隆抗体的目标浓度 $\geq 5\text{g/L}$;

所述Kappa抗体组中,所述兔抗人Kappa多克隆抗体的目标浓度 $\geq 7\text{g/L}$;

所述Kappa游离抗体组中,所述兔抗人Kappa游离多克隆抗体的目标浓度 $\geq 8\text{g/L}$;

所述Lambda抗体组中,所述兔抗人Lambda多克隆抗体的目标浓度 $\geq 11\text{g/L}$;

所述Lambda游离抗体组中,所述兔抗人Lambda游离多克隆抗体的目标浓度 $\geq 3.9\text{g/L}$;

所述抗体稳定剂为无机盐、防腐剂中的一种或两种;

所述无机盐为磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、三羟甲基氨基甲烷、氯化钠中的一种或几种;

所述防腐剂为异噻唑啉酮CIT/MIT;

所述复合指示剂为考马斯亮蓝与指示剂按照质量比50:1组成的混合液；

所述指示剂为溴酚蓝、二甲苯青FF、溴化乙啶中的任一种。

2. 根据权利要求1所述的免疫球蛋白重链-轻链检测试剂盒, 其特征在于, 还包括血清质控冻干粉。

免疫球蛋白重链-轻链检测试剂盒及其使用方法

技术领域

[0001] 本发明属于医学检验技术领域,具体涉及一种免疫球蛋白重链-轻链检测试剂盒及其使用方法。

背景技术

[0002] 人血浆内的免疫球蛋白大多数存在于丙种球蛋白(γ -球蛋白)中。可分为五类,即免疫球蛋白G(IgG)、免疫球蛋白A(IgA)、免疫球蛋白M(IgM)、免疫球蛋白D(IgD)和免疫球蛋白E(IgE)。其中IgG是最主要的免疫球蛋白,约占人血浆丙种球蛋白的70,分子量约15万,含糖2~3。IgG分子由4条肽链组成。其中分子量为2.5万的肽链,称轻链,分子量为5万的肽链,称重链。轻链与重链之间通过二硫键(—S—S—)相连接。免疫球蛋白是机体受抗原(如病原体)刺激后产生的,其主要作用是与抗原起免疫反应,生成抗原-抗体复合物,从而阻断病原体对机体的危害,使病原体失去致病作用。另一方面,免疫球蛋白有时也有致病作用。在慢性乙肝患者,长期白、球比例倒置,警惕有肝硬化迹象。

[0003] 单细胞系丙球蛋白病或单克隆免疫球蛋白病,为异常免疫球蛋白疾病的一种。一般认为一个浆细胞只能产生一种类型的免疫球蛋白,即一个浆细胞虽可形成许多免疫球蛋白分子,但这些分子都具有相同的重链、轻链、亚型和免疫特殊性,这样的免疫球蛋白称为单细胞系免疫球蛋白。正常情况下,机体内有许多不同的B细胞株,因而可形成许多不同的免疫球蛋白抗体。异常免疫球蛋白增多可由于细胞系来源不同而分为多细胞系丙球蛋白病。主要见于多种结缔组织病和自身免疫性疾病;以及单细胞系丙球蛋白病,后者主要表现为血清或尿中存在大量的某一种结构相同的免疫球蛋白。血清中的单一异常免疫球蛋白在电泳上可见基底窄而尖耸的异常蛋白高峰,是某一单细胞系异常增生所致,无明确抗体刺激来源。

[0004] 单一异常免疫球蛋白当超过一定数量时,在临床上可产生一些特异性表现,主要有(1)易感染:因单一异常免疫球蛋白的形成通过反馈机理抑制正常免疫球蛋白的产生,并使免疫球蛋白的分解增速;(2)高粘滞综合征;(3)冷球蛋白血症;(4)出血倾向;(5)高血钙病;(6)凝溶蛋白;(7)肾脏病变;(8)淀粉样变。上述与单一异常免疫球蛋白有关的表现非均见于所有单细胞系丙球蛋白病中,这些表现是否出现及其严重程度主要与血清中异常免疫球蛋白种类有关。

[0005] M蛋白具有特殊的理化性质,当血清中超过一定数量时,在临床上可产生一些特异性表现,主要有:(1)易感染,因M蛋白的形成通过反馈机理抑制正常免疫球蛋白的产生,并使免疫球蛋白的分解增速;(2)高粘滞综合病;(3)冷球蛋白血症;(4)出血倾向:M蛋白(主要是IgM)与血小板和凝血因子凝聚,而影响其功能,并引起毛细血管脆性增加;(5)高血钙病:M蛋白与钙结合,致使血清中非离子化钙增高,本周氏蛋白:系由肾脏排出的轻链;(6)肾脏病变:过多的游离轻链从肾小球滤过,部分在肾小管重吸收,久之可使肾小管上皮细胞产生退行性变,血钙和尿钙过高、血尿酸增高、高粘滞综合征及淀粉样变等均可造成肾功能损害;(7)淀粉样变,由于M蛋白与糖类物质形成复合体在组织中沉淀引起,主要侵犯舌、心、胃

肠道等多种器官。上述与M蛋白有关的表现并非均见于所有单细胞系丙球蛋白病中,这些表现是否出现及其严重程度主要与血中异常免疫球蛋白,即M蛋白的量和种类有关。在恶性浆细胞病,由于M蛋白明显增加,其症状较重,相对良性的疾病,特别是所谓“良性单细胞系丙球蛋白病”时,其M蛋白的量较低,症状也较轻,甚至除M蛋白血症外无明显临床表现。如M蛋白主要为IgM聚合变成六聚体(例如巨球蛋白血症时),易致高粘滞综合征和冷球蛋白血症。而轻链病血中存在有轻链片段,易表现尿中有凝溶蛋白并以肾功能损害为主要表现。

[0006] 重链病:五种免疫球蛋白的重链结构不同,其抗原性亦不同,分别以 γ 、 α 、 μ 、 δ 、 ϵ 各代表IgG、IgA、IgM、IgD、IgE的两条重链。重链病是浆细胞恶性增生性疾病,骨髓内亦可见异常之淋巴样或浆细胞样细胞浸润。此种异常增殖细胞对丙种球蛋白的合成控制发生紊乱,不能分泌轻链,或产生过多的 γ 、 α 或 μ 重链片段。

[0007] 轻链病:轻链病(LCD)与轻链沉积病(LCDD)是一种浆细胞异常增生性疾病。是由于异常的浆细胞产生过多的轻链,而重链的合成相应减少。本病多发于中、老年人(>45岁)。过多游离的轻链片段在血清或尿液中大量出现称为轻链病;一旦免疫球蛋白轻链在全身组织中沉积,引起相应的临床表现即为轻链沉积病。常见于多发性骨髓瘤。

[0008] 传统检测血液中免疫球蛋白大多数仅测人体含量较高IgG、IgA、IgM,具体包括:1. 醋酸盐缓冲液法:利用本周氏蛋白凝溶性在醋酸盐缓冲液条件下水浴56℃出现浑浊沉淀,再沸水浴浑浊沉淀变清来定性检测。2. 免疫固定法:指对血清中的各种蛋白成分进行分离,用于区分蛋白的类型。常用于单克隆免疫球蛋白增殖病重链病、定位蛋白图谱中的寡克隆、多克隆免疫球蛋白病等多种免疫疾病的辅助诊断。3. 免疫比浊法:当抗原与抗体在特殊稀释系统中反应而且比例合适(一般规定抗体过量)时,形成的可溶性免疫复合物在稀释系统中的促聚剂(聚乙二醇等)的作用下,自液相析出,形成微粒,使反应液出现浊度。当抗体浓度固定时,形成的免疫复合物的量随着检样中抗原量的增加而增加,反应液的浊度也随之增加。通过测定反应液的浊度与一系列标准品对照,即可计算出检样中抗原的含量。免疫比浊法容易抗原或抗体量大大过剩,可出现可溶性复合物,造成误差;应维持反应管中抗体蛋白始终过剩;易受到脂血的影响。

发明内容

[0009] 为了解决现有技术存在的上述问题,本发明提供了一种免疫球蛋白重链-轻链检测试剂盒及其使用方法。本发明所述免疫球蛋白重链-轻链检测试剂盒,能够大大提高免疫球蛋白异常增生的检测率,同时降低其他病变干扰物影响,提高抗原抗体结合的抗干扰能力;既可以检测常见IgG- κ 、IgG- λ 、IgA- κ 、IgA- λ 、IgM- κ 、IgM- λ ,又可以检测罕见的IgD- κ 、IgD- λ 、IgE- κ 、IgE- λ 。同时对游离轻链也能够检测Kappa型和Lambda型。对游离轻链也能够检测Kappa型和Lambda型;本发明所述免疫球蛋白重链-轻链检测试剂盒,有效解决了现有技术中的醋酸盐缓冲液法技术落后、实验过程繁琐严格以及免疫固定法无法检测轻链病的问题,也避免了免疫比浊法抗体浪费的问题。

[0010] 本发明所采用的技术方案为:

[0011] 一种免疫球蛋白重链-轻链检测试剂盒,包括固定液、重链多克隆抗体、轻链多克隆抗体;

[0012] 所述固定液包括如下组分:50-70重量份的三氯乙酸、10-20重量份的二水合2-羟

基-5-磺基苯甲酸、10-40重量份的缓冲液；

[0013] 所述重链多克隆抗体包括：IgG抗体组、IgA抗体组、IgM抗体组、IgD抗体组和IgE抗体组；

[0014] 所述IgG抗体组的原料组成：35-50重量份的兔抗人IgG多克隆抗体、50-65重量份的抗体稳定剂、0.01-1重量份的指示剂；

[0015] 所述IgA抗体组的原料组成：35-50重量份的兔抗人IgA多克隆抗体、50-65重量份的抗体稳定剂、0.01-1重量份的指示剂；

[0016] 所述IgM抗体组的原料组成：35-50重量份的兔抗人IgM多克隆抗体、50-65重量份的抗体稳定剂、0.01-1重量份的指示剂；

[0017] 所述IgD抗体组的原料组成：35-50重量份的兔抗人IgD多克隆抗体、50-65重量份的抗体稳定剂、0.01-1重量份的指示剂；

[0018] 所述IgE抗体组的原料组成：35-50重量份的兔抗人IgE多克隆抗体、50-65重量份的抗体稳定剂、0.01-1重量份的指示剂；

[0019] 所述轻链多克隆抗体包括：Kappa抗体组、Kappa游离抗体组、Lambda抗体组、Lambda游离抗体组；

[0020] 所述Kappa抗体组的原料组成：35-50重量份的兔抗人Kappa多克隆抗体、50-65重量份的抗体稳定剂、0.01-1重量份的指示剂；

[0021] 所述Kappa游离抗体组的原料组成：35-50重量份的兔抗人Kappa游离多克隆抗体、50-65重量份的抗体稳定剂、0.01-1重量份的指示剂；

[0022] 所述Lambda抗体组的原料组成：35-50重量份的兔抗人Lambda多克隆抗体、50-65重量份的抗体稳定剂、0.01-1重量份的指示剂；

[0023] 所述Lambda游离抗体组的原料组成：35-50重量份的兔抗人Lambda游离多克隆抗体、50-65重量份的抗体稳定剂、0.01-1重量份的指示剂。

[0024] 优选地，所述IgG抗体组中，所述兔抗人IgG多克隆抗体的目标浓度 $\geq 4.2\text{g/L}$ ；

[0025] 所述IgA抗体组中，所述兔抗人IgA多克隆抗体的目标浓度 $\geq 3.6\text{g/L}$ ；

[0026] 所述IgM抗体组中，所述兔抗人IgM多克隆抗体的目标浓度 $\geq 3.7\text{g/L}$ ；

[0027] 所述IgD抗体组中，所述兔抗人IgD多克隆抗体的目标浓度 $\geq 1.5\text{g/L}$ ；

[0028] 所述IgE抗体组中，所述兔抗人IgE多克隆抗体的目标浓度 $\geq 5\text{g/L}$ 。

[0029] 优选地，所述Kappa抗体组中，所述兔抗人Kappa多克隆抗体的目标浓度 $\geq 7\text{g/L}$ ；

[0030] 所述Kappa游离抗体组中，所述兔抗人Kappa游离多克隆抗体的目标浓度 $\geq 8\text{g/L}$ ；

[0031] 所述Lambda抗体组中，所述兔抗人Lambda多克隆抗体的目标浓度 $\geq 11\text{g/L}$ ；

[0032] 所述Lambda游离抗体组中，所述兔抗人Lambda游离多克隆抗体的目标浓度 $\geq 3.9\text{g/L}$ 。

[0033] 目标浓度是指通过将抗体稳定剂和指示剂混合后，兔多克隆抗体抗体在溶液中的最终浓度，经计算可获得目标浓度。

[0034] 所述固定液中的缓冲液的pH为7.5，所述缓冲液为磷酸缓冲液、Tris缓冲液中的一种。

[0035] 所述抗体稳定剂为无机盐、防腐剂中的一种或多种。

[0036] 所述无机盐为磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、三羟甲基氨基甲烷、氯化钠中的一种或几

种；

[0037] 所述防腐剂为异噻唑啉酮CIT/MIT。

[0038] 所述复合指示剂为考马斯亮蓝与指示剂按照质量比50:1组成的混合液。

[0039] 所述指示剂为溴酚蓝、二甲苯青FF、溴化乙啶中的任一种或多种。

[0040] 进一步优选所述的免疫球蛋白重链-轻链检测试剂盒,还包括血清质控冻干粉,所述血清质控冻干粉为朗道质控血清、伯乐质控血清中的任一种。

[0041] 所述免疫球蛋白重链-轻链检测试剂盒在电泳条件下的使用方法,步骤如下:

[0042] (1) 将稀释好的血清样本,在琼脂糖胶片上,每条泳道加入10 μ l样本,重复加入10个点样孔进行电泳分离血清蛋白;

[0043] (2) 经过电泳分离血清蛋白,形成10条泳道;其中1条泳道加入固定液,其中5条泳道上分别加入固定液和IgG抗体组的混合液、固定液和IgA抗体组的混合液、固定液和IgM抗体组的混合液、固定液和IgD抗体组的混合液、固定液和IgE抗体组的混合液,剩余4条泳道上分别加入固定液和Kappa抗体组的混合液、固定液和Kappa游离抗体组的混合液、固定液和Lambda抗体组的混合液、固定液和Lambda游离抗体组的混合液;

[0044] 之后将上述10条泳道,在20 $^{\circ}$ C孵育5分钟;

[0045] (3) 胶片吸液烘干、着色脱色及最终干燥;

[0046] (4) 取下干燥后的胶片查看检验结果。

[0047] 本发明的有益效果为:

[0048] (1) 本发明所述的免疫球蛋白重链-轻链检测试剂盒,包括固定液、重链多克隆抗体和轻链多克隆抗体,从而通过涉及人体中免疫球蛋白全部类型、结合型轻链与游离轻链,既可以检测常见IgG- κ 、IgG- λ 、IgA- κ 、IgA- λ 、IgM- κ 、IgM- λ ,又可以检测罕见IgD- κ 、IgD- λ 、IgE- κ 、IgE- λ ,同时对游离轻链也能够检测Kappa型和Lambda型,而游离轻链异常增生在临床上通过被诊断为多发性骨髓瘤。

[0049] (2) 本发明所述免疫球蛋白重链-轻链检测试剂盒,通过选择可特异性结合的多位点多克隆抗体,利用九种兔多克隆抗体,特异性强,特异性结合位点多,亲和力好,效价高,且选取兔抗血清稳定性好,能大大提高检测免疫球蛋白免疫异常增生不同突变结合位点,同时还能降低其他病变干扰物影响,从而本发明所述试剂盒能够大大提高免疫球蛋白异常增生的检测率,提高抗原抗体结合的抗干扰能力;本发明所述免疫球蛋白重链-轻链检测试剂盒,有效解决了现有技术中的醋酸盐缓冲液法技术落后、实验过程繁琐严格以及免疫固定法无法检测轻链病的问题,也避免了免疫比浊法抗体浪费的问题。

[0050] (3) 本发明所述的免疫球蛋白重链-轻链检测试剂盒,通过抗体与抗体稳定剂按最佳比例混合,有效减少抗体过剩情况出现,提高检测灵敏度;利用九种不同的多克隆抗体进行抗原抗体特异性结合反应,形成沉淀复合物后,通过指示剂形成肉眼可见浓集区带,从而能够肉眼观察到抗体是否覆盖抗原,保证了试剂盒高准确性、高灵敏度、强特异性及多位点,减少人为操作不当导致实验失败。

[0051] (4) 本发明所述的免疫球蛋白重链-轻链检测试剂盒,在进行检测时,通过将人血清按一定比例稀释后,再与抗体结合,可减少抗原过剩,导致空带。

[0052] (5) 本发明所述的免疫球蛋白重链-轻链检测试剂盒,在进行检测时,通过电泳法将血清蛋白分离,检测血清中异常增高的免疫球蛋白。相比于传统即使,本发明所述试剂

盒,操作简便,灵敏度高,检测率快,费用低廉,便于自动化等优点,适合临床检测应用。

具体实施方式

[0053] 为使本发明的目的、技术方案和优点更加清楚,下面将对本发明的技术方案进行详细的描述。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的前提下所得到的所有其它实施方式,都属于本发明所保护的范围。

[0054] 下述实施例中的重链多克隆抗体、轻链多克隆抗体均为采购于丹麦DAKO公司的兔多克隆抗体,其他涉及到的试剂等均为本领域技术人员所知晓的市售产品。

[0055] 实施例1

[0056] 本实施例提供一种适用于电泳法的免疫球蛋白重链-轻链检测试剂盒,包括固定液、重链多克隆抗体、轻链多克隆抗体、朗道质控血清冻干粉。

[0057] 所述固定液的各组分及各组分的质量百分比如下:

[0058]	三氯乙酸	70%
	二水合2-羟基-5-磺基苯甲酸	20%
	磷酸缓冲液(pH=7.5)	10%

[0059] 所述磷酸缓冲液采用如下原料配制:

[0060]	pH	7.5
	H ₂ O	1000ml
	NaCl	8.5g
	Na ₂ HPO ₄	2.2g
	NaH ₂ PO ₄	0.1g

[0061] 所述重链多克隆抗体的各组分及各组分的质量百分比如下:

[0062]	IgG 抗体组	
	兔抗人 IgG 多克隆抗体	35% (目标浓度为 4.2g/L)
	抗体稳定剂为磷酸氢二钠	64%
	复合指示剂	1%
	IgA 抗体组	
	兔抗人 IgA 多克隆抗体	35% (目标浓度为 3.6g/L)

[0063]	抗体稳定剂为磷酸氢二钠	64%
	复合指示剂	1%
	IgM 抗体组	
	兔抗人 IgM 多克隆抗体	35% (目标浓度为 3.7g/L)
	抗体稳定剂为磷酸氢二钠	64%
	复合指示剂	1%
	IgD 抗体组	
	兔抗人 IgD 多克隆抗体	35% (目标浓度为 1.5g/L)
	抗体稳定剂为磷酸氢二钠	64%
	复合指示剂	1%
	兔抗人 IgE 多克隆抗体	35% (目标浓度为 5g/L)
	抗体稳定剂为磷酸氢二钠	64%
复合指示剂	1%	

[0064] 所述轻链多克隆抗体的各组分及各组分的质量百分比如下：

	Kappa 抗体组	
	兔抗人 Kappa 轻链多克隆抗体	35% (目标浓度为 7g/L)
	抗体稳定剂为磷酸氢二钠	64%
	指示剂	1%
	Lambda 抗体组	
	兔抗人 Lambda 轻链多克隆抗体	35% (目标浓度为 11g/L)
	抗体稳定剂为磷酸氢二钠	64%
	复合指示剂	1%
[0065]	Kappa 游离抗体组	
	兔抗人 Kappa 游离轻链多克隆抗体	35% (目标浓度为 8g/L)
	抗体稳定剂为磷酸氢二钠	64%
	复合指示剂	1%
	Lambda 游离抗体组	
	兔抗人 Lambda 游离轻链多克隆抗体	35% (目标浓度为 3.9g/L)
	抗体稳定剂为磷酸氢二钠	64%
	复合指示剂	1%

[0066] 所述复合指示剂的配制方法：

[0067] (a) 称量下列试剂，置于10ml离心管中；

[0068] 0.5M EDTA, 200ul；

[0069] 0.25% 溴酚兰, 25mg；

[0070] 0.25% 二甲苯氰, 25mg；

[0071] (b) 向离心管中加入4ml DEPC处理水，充分搅拌溶解；

[0072] (c) 加入50% 甘油5ml，充分混匀；

[0073] (d) 用高压蒸汽灭菌锅处理后蒸馏水定容至10ml，室温保存；

[0074] (e) 在上述混合液中加入考马斯亮蓝，加入比例为1:50，混匀后贴标贴为复合指示剂。

[0075] 本实施例所述免疫球蛋白重链-轻链检测试剂盒在电泳条件下的使用方法，具体如下：

[0076] (1) 将全自动琼脂糖电泳仪设定为免疫固定程序电泳程序；

[0077] 将稀释好的血清样本，在琼脂糖胶片上，每条泳道加入10μl样本，重复加入10个点样孔进行电泳分离蛋白；

[0078] (2) 经过电泳分离血清蛋白，形成10条泳道；按顺序，第1条泳道加入10ul固定液，

接着第2、3、4、5、6条泳道上依次分别加入10u1固定液和10u1的IgG抗体组的混合液、10u1固定液和10u1的IgA抗体组的混合液、10u1固定液和10u1的IgM抗体组的混合液、10u1固定液和10u1的IgD抗体组的混合液、10u1固定液和10u1的IgE抗体组的混合液,之后的第7、8、9、10条泳道上依次分别加入10u1固定液和10u1的Kappa抗体组的混合液、10u1固定液和10u1的Kappa游离抗体组的混合液、10u1固定液和10u1的Lambda抗体组的混合液、10u1固定液和10u1的Lambda游离抗体组的混合液;

[0079] 之后将上述10条泳道,在20℃孵育5分钟;

[0080] (3) 胶片吸液烘干、着色脱色及最终干燥;

[0081] (4) 取下干燥后的胶片查看检验结果。

[0082] 实施例2

[0083] 本实施例提供一种适用于电泳法的免疫球蛋白重链-轻链检测试剂盒,包括固定液、重链多克隆抗体、轻链多克隆抗体、伯乐质控血清冻干粉。

[0084] 所述固定液的各组分及各组分的质量百分比如下:

[0085]	三氯乙酸	70%
	二水合2-羟基-5-磺基苯甲酸	20%
	磷酸缓冲液(pH=7.5)	10%

[0086] 所述磷酸缓冲液采用如下原料配制:

pH	7.5
H ₂ O	1000ml
NaCl	8.5g
Na ₂ HPO ₄	2.2g
NaH ₂ PO ₄	0.1g

[0088] 所述重链多克隆抗体的各组分及各组分的质量百分比如下:

[0089]	IgG 抗体组	
	兔抗人 IgG 多克隆抗体	50% (目标浓度为 6g/L)
	抗体稳定剂为磷酸二氢钠	49.9%
	复合指示剂	0.1%
	IgA 抗体组	
	兔抗人 IgA 多克隆抗体	50% (目标浓度为 5.1g/L)
	抗体稳定剂为磷酸二氢钠	49.9%
	复合指示剂	0.1%
	IgM 抗体组	
	兔抗人 IgM 多克隆抗体	50% (目标浓度为 5.3g/L)
	抗体稳定剂为磷酸二氢钠	49.9%
	指示剂	0.1%
[0090]	IgD 抗体组	
	兔抗人 IgD 多克隆抗体	50% (目标浓度为 2.1g/L)
	抗体稳定剂为磷酸二氢钠	49.9%
	复合指示剂	0.1%
	IgE 抗体组	
	兔抗人 IgE 多克隆抗体	50% (目标浓度为 7.1g/L)
	抗体稳定剂为磷酸二氢钠	49.9%
	复合指示剂	0.1%

[0091] 所述轻链多克隆抗体的各组分及各组分的质量百分比如下：

	Kappa 抗体组	
	兔抗人 Kappa 轻链多克隆抗体	50% (目标浓度为 10g/L)
	抗体稳定剂为磷酸二氢钠	49.9%
	复合指示剂	0.1%
	Lambda 抗体组	
	兔抗人 Lambda 轻链多克隆抗体	50% (目标浓度为 11.4g/L)
	抗体稳定剂为磷酸二氢钠	49.9%
	复合指示剂	0.1%
[0092]	Kappa 游离抗体组	
	兔抗人 Kappa 游离轻链多克隆抗体	50% (目标浓度为 18g/L)
	抗体稳定剂为磷酸二氢钠	49.9%
	复合指示剂	0.1%
	Lambda 游离抗体组	
	兔抗人 Lambda 游离轻链多克隆抗体	50% (目标浓度为 5.6g/L)
	抗体稳定剂为磷酸二氢钠	49.9%
	复合指示剂	0.1%

[0093] 所述复合指示剂的配制方法:

[0094] (a) 称量下列试剂,置于10ml离心管中;

[0095] 0.5M EDTA,200ul;

[0096] 0.25%溴酚兰,25mg;

[0097] 0.25%溴化乙啶,25mg;

[0098] (b) 向离心管中加入4ml DEPC处理水,充分搅拌溶解;

[0099] (c) 加入50%甘油5ml,充分混匀;

[0100] (d) 用高压蒸汽灭菌锅处理后蒸馏水定容至10ml,室温保存;

[0101] (e) 在上述混合液中加入考马斯亮蓝,加入比例为1:50,混匀后贴标贴为复合指示剂。

[0102] 本实施例所述免疫球蛋白重链-轻链检测试剂盒的使用方法,具体如下:

[0103] (1) 将全自动琼脂糖电泳仪设定为免疫固定程序电泳程序;

[0104] 将稀释好的血清样本,在琼脂糖胶片上,每条泳道加入10 μ l样本,重复加入10个点样孔进行电泳分离蛋白;

[0105] (2) 经过电泳分离血清蛋白,形成10条泳道;按顺序,第1条泳道加入10ul固定液,接着第2、3、4、5、6条泳道上依次分别加入10ul固定液和10ul的IgG抗体组的混合液、10ul固

定液和10ul的IgA抗体组的混合液、10ul固定液和10ul的IgM抗体组的混合液、10ul固定液和10ul的IgD抗体组的混合液、10ul固定液和10ul的IgE抗体组的混合液,之后的第7、8、9、10条泳道上依次分别加入10ul固定液和10ul的Kappa抗体组的混合液、10ul固定液和10ul的Kappa游离抗体组的混合液、10ul固定液和10ul的Lambda抗体组的混合液、10ul固定液和10ul的Lambda游离抗体组的混合液;

[0106] 之后将上述10条泳道,在20℃孵育5分钟;

[0107] (3) 胶片吸液烘干、着色脱色及最终干燥;

[0108] (4) 取下干燥后的胶片查看检验结果。

[0109] 实施例3

[0110] 本实施例提供一种适用于电泳法的免疫球蛋白重链-轻链检测试剂盒,包括固定液、重链多克隆抗体、轻链多克隆抗体、朗道质控血清冻干粉。所述固定液的各组分及各组分的质量百分比如下:

[0111]	三氯乙酸	70%
	二水合2-羟基-5-磺基苯甲酸	20%
	磷酸缓冲液(pH=7.5)	10%

[0112] 所述磷酸缓冲液采用如下原料配制:

[0113]	pH	7.5
	H ₂ O	1000ml
	NaCl	8.5g
	Na ₂ HPO ₄	2.2g
	NaH ₂ PO ₄	0.1g

[0114] 所述重链多克隆抗体的各组分及各组分的质量百分比如下:

[0115]	IgG抗体组	
	兔抗人IgG多克隆抗体	40% (目标浓度为4.8g/L)
	抗体稳定剂为三羟甲基氨基甲烷	59.9%
	复合指示剂	0.01%
	IgA抗体组	
	兔抗人IgA多克隆抗体	40% (目标浓度为4.1g/L)
	抗体稳定剂为三羟甲基氨基甲烷	59.9%
	复合指示剂	0.01%
	IgM抗体组	
	兔抗人IgM多克隆抗体	40% (目标浓度为4.2g/L)
	抗体稳定剂为三羟甲基氨基甲烷	59.9%
	复合指示剂	0.01%
	IgD抗体组	

兔抗人IgD多克隆抗体	40% (目标浓度为1.7g/L)
抗体稳定剂为三羟甲基氨基甲烷	59.9%
复合指示剂	0.01%
IgE抗体组	
兔抗人IgE多克隆抗体	40% (目标浓度为5.7g/L)
抗体稳定剂为三羟甲基氨基甲烷	59.9%
复合指示剂	0.01%

[0116] 所述轻链多克隆抗体的各组分及各组分的质量百分比如下：

[0117]	Kappa抗体组	
	兔抗人Kappa轻链多克隆抗体	40% (目标浓度为8g/L)
	抗体稳定剂为三羟甲基氨基甲烷	59.9%
	复合指示剂	0.01%
	Lambda抗体组	
	兔抗人Lambda轻链多克隆抗体	40% (目标浓度为9.1g/L)
	抗体稳定剂为三羟甲基氨基甲烷	59.9%
	复合指示剂	0.01%
	Kappa游离抗体组	
	兔抗人Kappa游离轻链多克隆抗体	40% (目标浓度为12.6g/L)
	抗体稳定剂为三羟甲基氨基甲烷	59.9%
	复合指示剂	0.01%
	Lambda游离抗体组	
	兔抗人Lambda游离轻链多克隆抗体	40% (目标浓度为4.5g/L)
	抗体稳定剂为三羟甲基氨基甲烷	59.9%
	复合指示剂	0.01%

[0118] 所述复合指示剂的配制方法：

[0119] (a) 称量下列试剂，置于10ml离心管中；

[0120] 0.5M EDTA, 200ul；

[0121] 0.25%二甲苯氰, 25mg；

[0122] 0.25%溴化乙啶, 25mg；

[0123] (b) 向离心管中加入4ml DEPC处理水，充分搅拌溶解；

[0124] (c) 加入50%甘油5ml，充分混匀；

[0125] (d) 用高压蒸汽灭菌锅处理后蒸馏水定容至10ml，室温保存；

[0126] (e) 在上述混合液中加入考马斯亮蓝，加入比例为1:50，混匀后贴标贴为复合指示剂。

[0127] 本实施例所述免疫球蛋白重链-轻链检测试剂盒的使用方法(电泳法)，具体如下：

[0128] (1) 将全自动琼脂糖电泳仪设定为免疫固定程序电泳程序；

[0129] 将稀释好的血清样本，在琼脂糖胶片上，每条泳道加入10μl样本，重复加入10个点样孔进行电泳分离蛋白；

[0130] (2) 经过电泳分离血清蛋白，形成10条泳道；按顺序，第1条泳道加入10ul固定液，

接着第2、3、4、5、6条泳道上依次分别加入10u1固定液和10u1的IgG抗体组的混合液、10u1固定液和10u1的IgA抗体组的混合液、10u1固定液和10u1的IgM抗体组的混合液、10u1固定液和10u1的IgD抗体组的混合液、10u1固定液和10u1的IgE抗体组的混合液，之后的第7、8、9、10条泳道上依次分别加入10u1固定液和10u1的Kappa抗体组的混合液、10u1固定液和10u1的Kappa游离抗体组的混合液、10u1固定液和10u1的Lambda抗体组的混合液、10u1固定液和10u1的Lambda游离抗体组的混合液；

[0131] 之后将上述10条泳道，在20℃孵育5分钟；

[0132] (3) 胶片吸液烘干、着色脱色及最终干燥；

[0133] (4) 取下干燥后的胶片查看检验结果。

[0134] 实施例4

[0135] 本实施例提供一种适用于电泳法的免疫球蛋白重链-轻链检测试剂盒，包括固定液、重链多克隆抗体、轻链多克隆抗体、朗道质控血清冻干粉。

[0136] 所述固定液的各组分及各组分的质量百分比如下：

[0137]	三氯乙酸	70%
	二水合2-羟基-5-磺基苯甲酸	20%
	Tris-HCl缓冲液(pH=7.5)	10%

[0138] 所述1M Tris-HCl缓冲液(pH7.5)采用如下原料配制：

[0139] (A) 称量121.1gTris置于1L烧杯中；

[0140] (B) 加入约800ml的去离子水中，充分搅拌溶解；

[0141] (C) 按下表加入约65ml浓HCl量调节所需Ph值；

[0142] (D) 将溶液定容至1L；

[0143] (E) 高压蒸汽灭菌后，室温保存。

[0144] 所述重链多克隆抗体的各组分及各组分的质量百分比如下：

[0145]	IgG抗体组	
	兔抗人IgG多克隆抗体	35% (目标浓度为4.2g/L)
	抗体稳定剂为氯化钠	64%
	复合指示剂	1%
	IgA抗体组	
	兔抗人IgA多克隆抗体	35% (目标浓度为3.6g/L)
	抗体稳定剂为氯化钠	64%
	复合指示剂	1%
	IgM抗体组	
	兔抗人IgM多克隆抗体	35% (目标浓度为3.7g/L)
	抗体稳定剂为氯化钠	64%
	复合指示剂	1%
	IgD抗体组	
	兔抗人IgD多克隆抗体	35% (目标浓度为1.5g/L)
	抗体稳定剂为氯化钠	64%
	复合指示剂	1%

IgE抗体组	
兔抗人IgE多克隆抗体	35% (目标浓度为5g/L)
抗体稳定剂为氯化钠	64%
复合指示剂	1%

[0146] 所述轻链多克隆抗体的各组分及各组分的质量百分比如下：

Kappa 抗体组	
兔抗人 Kappa 轻链多克隆抗体	35% (目标浓度为 7g/L)
抗体稳定剂为氯化钠	64%
复合指示剂	1%
Lambda 抗体组	
兔抗人 Lambda 轻链多克隆抗体	35% (目标浓度为 11g/L)

[0147]

抗体稳定剂为氯化钠	64%
复合指示剂	1%
Kappa 游离抗体组	
兔抗人 Kappa 游离轻链多克隆抗体	35% (目标浓度为 8g/L)
抗体稳定剂为氯化钠	64%
复合指示剂	1%
Lambda 游离抗体组	
兔抗人 Lambda 游离轻链多克隆抗体	35% (目标浓度为 3.9g/L)
抗体稳定剂为氯化钠	64%
复合指示剂	1%

[0148]

[0149] 所述复合指示剂的配制方法：

[0150] (a) 称量下列试剂，置于10ml离心管中；

[0151] 0.5M EDTA, 200ul；

[0152] 0.25% 溴酚兰, 25mg；

[0153] 0.25% 二甲苯氰, 25mg；

[0154] 0.25% 溴化乙啶, 25mg；

[0155] (b) 向离心管中加入4ml DEPC处理水，充分搅拌溶解；

[0156] (c) 加入50%甘油5ml，充分混匀；

[0157] (d) 用高压蒸汽灭菌锅处理后蒸馏水定容至10ml，室温保存；

[0158] (e) 在上述混合液中加入考马斯亮蓝，加入比例为1:50，混匀后贴标贴为复合指示剂。

[0159] 本实施例所述免疫球蛋白重链-轻链检测试剂盒的使用方法(电泳法)，具体如下：

[0160] (1) 将全自动琼脂糖电泳仪设定为免疫固定程序电泳程序；

[0161] 将稀释好的血清样本，在琼脂糖胶片上，每条泳道加入10μl样本，重复加入10个点

样孔进行电泳分离蛋白；

[0162] (2) 经过电泳分离血清蛋白，形成10条泳道；按顺序，第1条泳道加入10ul固定液，接着第2、3、4、5、6条泳道上依次分别加入10ul固定液和10ul的IgG抗体组的混合液、10ul固定液和10ul的IgA抗体组的混合液、10ul固定液和10ul的IgM抗体组的混合液、10ul固定液和10ul的IgD抗体组的混合液、10ul固定液和10ul的IgE抗体组的混合液，之后的第7、8、9、10条泳道上依次分别加入10ul固定液和10ul的Kappa抗体组的混合液、10ul固定液和10ul的Kappa游离抗体组的混合液、10ul固定液和10ul的Lambda抗体组的混合液、10ul固定液和10ul的Lambda游离抗体组的混合液；

[0163] 之后将上述10条泳道，在20℃孵育5分钟；

[0164] (3) 胶片吸液烘干、着色脱色及最终干燥；

[0165] (4) 取下干燥后的胶片查看检验结果。

[0166] 实施例5

[0167] 本实施例提供一种适用于电泳法的免疫球蛋白重链-轻链检测试剂盒，本实施例所述试剂盒与实施例1的区别仅在于，各抗体组中采用的抗体稳定剂均为异噻唑啉酮CIT/MIT，其他原料的种类和用量均与实施例2相同。

[0168] 实验例

[0169] 一、临界浓度值测定

[0170] 阳性标本即临床诊断判定为免疫球蛋白异常增生，包括了Lambda异常和Kappa型异常

[0171] 将阳性标本(IgG-Lambda型免疫球蛋白异常标本)进行系列倍比稀释，然后将他们进行重复检测，以确定能够获得50%阳性和50%阴性结果的那个稀释度，这一稀释度的分析物浓度即为临界值浓度(C50)，并且确保临界浓度20%的浓度的范围处于95%区间内(C5~C95)。

[0172] 根据浓度为C50的样本在40次检测中得到阳性结果的次数判断C50是否准确。

[0173] 表1: C50是否准确判断标准

	40 次测试的阳性结果百分数	C50 准确性判断
[0174]	$\leq 13/40$ (32.5%)	不准确 (统计学的错误率为 5%)
	$\geq 27/40$ (67.5%)	
	(14-26) /40 (35%-65%)	准确

[0175] 如果C50准确，浓度为C50的样本重复检测应获得50%的阳性和50%阴性的结果。

[0176] 表2列举了-20%~+20%浓度范围是否包含了C5~C95区间的几种类型，具体如下。

[0177] 表2: -20%~+20%浓度范围是否包含了C5~C95区间

[0178]

类型	样本浓度	阴性或阳性结果所占比例	结论
1	+20%	阳性结果 $\cong 87.5\%$ (35/40)	-20%~+20%浓度范围在 C5~C95 区间之内;用该方法检测,浓度超过 C50 \pm 20%的样本检测结果不一致;需使用更宽浓度范围的样本(如 $\pm 30\%$)进行另外的试验
	-20%	阴性结果 $\cong 87.5\%$ (35/40)	
2	+20%	阳性结果 $\cong 90\%$ (36/40)	-20%~+20%浓度范围在 C5~C95 区间;用该方法检测,浓度超过 C50 \pm 20%的样本检测结果一致;
	-20%	阴性结果 $\cong 90\%$ (36/40)	
3	+20%	阳性结果 $\cong 90\%$ (36/40)	-20%~+20%浓度范围只是部分在 C5~C95 区间内 (+20%

[0179]		-20%	阴性结果 $\leq 87.5\%$ (35/40)	包含了 C5~C95 区间, 但 -20%浓度的样本在 C5~C95 区间内); 用该方法检测, C50+20%的样本检测结果一致, C50-20%的样本不一定能得到一致结果; 需要用低于 C50 更大百分率浓度的样本(如-30%)进行补充试验。
	4	+20%	阳性结果 $\leq 87.5\%$ (35/40)	
		-20%	阴性结果 $\geq 90\%$ (36/40)	-20%~+20%浓度范围只是部分在 C5~C95 区间内 (+20%浓度样本在 C5~C95 区间, 但-20%包含了 C5~C95 区间); 用该方法检测, C50-20%的样本检测结果一致, C50+20%的样本不一定能得到一致结果; 需要用高于 C50 更大百分率浓度的样本(如+30%)进行补充试验。

[0180] 用本发明实施例1所述试剂盒分别对浓度为C50-20%、C50、C50+20%的阳性样本(IgG-Lambda型免疫球蛋白异常标本)进行重复检测40次,实验结果如表3所示。

[0181] 表3:浓度为C50-20%、C50、C50+20%的测试结果表

C50-20%测试结果		C50 测试结果		C50+20%测试结果	
测试号	阳性/阴性	测试号	阳性 / 阴性	测试号	阳性/阴性

[0183]

测试 1	阴性	测试 1	阳性	测试 1	阳性
测试 2	阴性	测试 2	阴性	测试 2	阳性
测试 3	阴性	测试 3	阳性	测试 3	阳性
测试 4	阴性	测试 4	阳性	测试 4	阳性
测试 5	阴性	测试 5	阴性	测试 5	阳性
测试 6	阴性	测试 6	阴性	测试 6	阳性
测试 7	阴性	测试 7	阴性	测试 7	阳性
测试 8	阴性	测试 8	阳性	测试 8	阳性
测试 9	阴性	测试 9	阴性	测试 9	阳性
测试 10	阴性	测试 10	阴性	测试 10	阳性
测试 11	阴性	测试 11	阴性	测试 11	阳性
测试 12	阴性	测试 12	阳性	测试 12	阳性
测试 13	阴性	测试 13	阳性	测试 13	阳性
测试 14	阴性	测试 14	阳性	测试 14	阳性
测试 15	阴性	测试 15	阳性	测试 15	阳性
测试 16	阴性	测试 16	阴性	测试 16	阳性
测试 17	阴性	测试 17	阳性	测试 17	阳性
测试 18	阴性	测试 18	阴性	测试 18	阴性
测试 19	阴性	测试 19	阴性	测试 19	阳性
测试 20	阳性	测试 20	阳性	测试 20	阳性
测试 21	阴性	测试 21	阳性	测试 21	阳性
测试 22	阴性	测试 22	阴性	测试 22	阴性
测试 23	阴性	测试 23	阴性	测试 23	阳性
测试 24	阴性	测试 24	阳性	测试 24	阳性

[0184]	测试 25	阴性	测试 25	阴性	测试 25	阳性
	测试 26	阳性	测试 26	阳性	测试 26	阳性
	测试 27	阴性	测试 27	阴性	测试 27	阳性
	测试 28	阴性	测试 28	阳性	测试 28	阳性
	测试 29	阴性	测试 29	阴性	测试 29	阳性
	测试 30	阴性	测试 30	阳性	测试 30	阳性
	测试 31	阳性	测试 31	阳性	测试 31	阳性
	测试 32	阴性	测试 32	阴性	测试 32	阳性
	测试 33	阴性	测试 33	阳性	测试 33	阳性
	测试 34	阴性	测试 34	阳性	测试 34	阳性
	测试 35	阴性	测试 35	阳性	测试 35	阳性
	测试 36	阴性	测试 36	阴性	测试 36	阳性
	测试 37	阴性	测试 37	阴性	测试 37	阳性
	测试 38	阴性	测试 38	阴性	测试 38	阳性
	测试 39	阴性	测试 39	阳性	测试 39	阳性
	测试 40	阴性	测试 40	阳性	测试 40	阳性
	阴性结果比例	92.5%	阳性结果比例	52.5%	阳性结果比例	95%

[0185] 根本表2、表3可知,利用本发明实施例1试剂盒对浓度为C50的样本重复检测40次,阳性率为52.5%,C50准确。对C50+20%浓度的样本进行40次重复检测,得到38次阳性结果,阳性结果比例为95%>90%;对C50-20%浓度的样本进行40次重复检测,得到37次阴性结果,阴性结果比例为92.5%>90%;可推断-20%~+20%浓度范围包含了C5~C95区间,用本发明实施例1所述试剂盒进行检测,浓度超过C50±20%的样本检测结果一致。

[0186] 二、准确度测定

[0187] 选取临床诊断判定为阴性或临床诊断阳性的不同型别样本,按照本发明实施例1所述试剂盒样本稀释浓度要求,制备样本,每份样本分别用实施例1所述免疫球蛋白重链-轻链检测试剂盒(电泳法)检测,确定样本结果。计算阳性符合率和阴性符合率,评价所述免疫球蛋白重链-轻链检测试剂盒(待评价试剂)和临床诊断结果的一致性程度。

[0188] 表4:待评价试剂和临床诊断2×2表

	待评价方法	临床诊断结果		合计
		阳性	阴性	
[0189]	阳性	a	b	a+b
	阴性	c	d	c+d
	合计	a+c	b+d	n

[0190] 具体方法为:

[0191] 1) Kappa一致性检验:

[0192] $Kappa = (Po - Pe) / (1 - Pe)$

[0193] 观察符合率: $Po = (a+d) / n$

[0194] 机遇符合率 $Pe = [(a+b) * (a+c) + (b+d) * (b+c)] / n^2$

[0195] 目前认为, $Kappa < 0$, 一致性强度极差 (实际情况下发生可能性较低); 0-0.20, 微弱; 0.21-0.40, 弱; 0.41-0.60, 中度; 0.61-0.80, 高度; 0.81-1.00, 极强。

[0196] 2) 另对定性实验方法进行评价时, 应使用“符合率”对实验方法结果与对比方法结果的一致程度进行描述:

[0197] 阳性符合率 (PPA) = $\frac{a}{a+c} \times 100\%$

[0198] 阴性符合率 (NPA) = $\frac{d}{b+d} \times 100\%$

[0199] 总符合率 (OPA) = $\frac{a+d}{n} \times 100\%$

[0200] 符合率的95%计分可信区间计算公式为:

[0201] $100 \times \frac{Q1 \mp Q2}{Q3}$

[0202] PPA95%计分可信区间表示为:

[0203] $Q1, ppa = 2a + 1.96^2 = 2a + 3.84$

[0204] $Q2, ppa = 1.96 \times \sqrt{1.96^2 + 4ac} / (a+c)$

[0205] $Q3, ppa = 2(a+c + 1.96^2) = 2(a+c) + 7.68$

[0206] NPA95%计分可信区间表示为:

[0207] $Q1, npa = 2d + 1.96^2 = 2d + 3.84$

[0208] $Q2, npa = 1.96 \times \sqrt{1.96^2 + 4bd} / (b+d)$

[0209] $Q3, npa = 2(b+d + 1.96^2) = 2(b+d) + 7.68$

[0210] 实验结果:

[0211] 表5:阳性标本信息表

序号	型别
1	IgG-Kappa-Lambda
2	Kappa-Free Kappa
3	Lambda-Free Lambda
4	Kappa
5	IgG-Kappa
6	IgG-Lambda
7	IgA-Kappa-Lambda
8	IgA-Lambda
9	IgG-Lambda
10	IgG-Lambda
11	IgD-Lambda
12	IgG-Lambda
13	IgD-Lambda
14	IgD-Lambda-Free Lambda
15	Lambda-Free Lambda
16	IgM-Lambda
17	IgM-Kappa
18	IgD-Kappa
19	IgA-Lambda
20	IgG-Kappa

[0214] 表6:待评价试剂和比较方法试剂2×2表

	待评价方法	临床诊断结果		合计
		阳性	阴性	
[0215]	阳性	19	1	20
	阴性	0	20	20
	合计	19	21	40

[0216] 阳性符合率 = $19 / (19 + 0) \times 100\% = 100\%$

[0217] 阴性符合率 = $20 / (20 + 1) \times 100\% = 95.2\%$

[0218] 总符合率 = $[(19 + 20) / 40] \times 100\% = 97.5\%$

[0219] 95% 置信区间为: 敏感性 (79.70%, 95.8%), 特异性 (77.33%, 99.15%)

[0220] 一致性检验 kappa 值为 0.950, $P < 0.001$, 有统计学意义, 两种方法的一致性高。

[0221] 三、重复性测定

[0222] 取实施例 1 所述试剂盒, 以阳性样本和阴性样本各一例, 重复检测 5 次, 阳性样本重复检测结果均为阳性, 阴性样本重复检测均为阴性。结果如表 7 所示。

[0223] 表 7: 重复性检测结果

	样本	检测结果				
		测试 1	测试 2	测试 3	测试 4	测试 5
[0224]	阳性	阳性	阳性	阳性	阳性	阳性
	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性

[0225] 从表 7 可以看出, 通过对本发明实施例 1 所述试剂盒的重复性进行检测, 结果显示, 均符合要求。

[0226] 四、最低检测限测定

[0227] 用人的阴性血清对强阳性样本进行倍比稀释得到一系列稀释度的样本。取实施例 1 所述试剂盒对不同稀释度的参考品进行检测, 每个稀释度参考品至少检测三次, 直至检测为阴性结果为止。检测为阳性的最高稀释度参考品为最低检测限参考品。

[0228] 取实施例 1 所述试剂盒, 重复检测最低检测限参考品 20 次, 计算阳性率, 阳性率应 $\geq 90\%$, 检测结果如表 8 所示。

[0229] 表 8: 最低检测限实验结果

[0230]	测试号	阳性/阴性	测试号	阳性/阴性	测试号	阳性/阴性	测试号	阳性/阴性
--------	-----	-------	-----	-------	-----	-------	-----	-------

[0231]	测试 1	阳性	测试 6	阳性	测试 11	阳性	测试 16	阳性
	测试 2	阳性	测试 7	阳性	测试 12	阳性	测试 17	阳性
	测试 3	阳性	测试 8	阳性	测试 13	阳性	测试 18	阳性
	测试 4	阳性	测试 9	阳性	测试 14	阳性	测试 19	阳性
	测试 5	阳性	测试 10	阳性	测试 15	阳性	测试 20	阳性

[0232] 样本测定20次,阳性率均在90%以上,符合试剂盒要求。

[0233] 本发明提供的免疫球蛋白重链-轻链检测试剂盒(电泳法),通过利用可以特异性识别人体中所有免疫球蛋白类型,且通过多克隆抗体,能识别突变免疫球蛋白异常增生类型。选用该技术与特异性兔多抗克隆抗体结合的方式可以提高检测准确度,降低蛋白的干扰;并且通过免疫球蛋白重链-轻链检测试剂盒(电泳法),可检测Lambda型、Kappa型异常及Kappa型及Lambda型同时引起的尿液本周氏蛋白异常病。所采用的免疫球蛋白重链-轻链检测试剂盒(电泳法)具有操作简便、灵敏度高、检测率快、费用低廉、便于自动化等优点,非常适合临床检测应用。

[0234] 以上所述,仅为本发明的具体实施方式,但本发明的保护范围并不局限于此,任何熟悉本技术领域的技术人员在本发明揭露的技术范围内,可轻易想到变化或替换,都应涵盖在本发明的保护范围之内。因此,本发明的保护范围应以所述权利要求的保护范围为准。