



人降钙素原定量分析酶联免疫检测试剂盒

本试剂盒仅供科研使用。用于体外定量检测人血清、血浆中的降钙素原浓度。**使用前请仔细阅读说明书并检查试剂组分是否完整。**如有产品包装破损或质量投诉，请在收到货一个月之内联系我们。

降钙素原简介：

降钙素原 (PCT) 是由 116 个氨基酸组成的激素原，分子量大约为 12.7KD。PCT 由神经内分泌细胞（包括甲状腺，肺和胰腺组织的 C 细胞）表达，经酶切分解为 (未成熟) 降钙素，羧基端肽和氨基端肽。健康人血中仅含有少量的 PCT。1. 2. 细胞感染后 PCT 会明显升高。动物模型试验显示机体发生脓毒血症时，多组织均能表达 PCT。3. 脓毒血症患者体内的 PCT 只含有 114 个氨基酸，缺少氨基酸末端的 Ala-Pro。4. PCT 水平升高见于细胞性脓毒血症，尤其是重症脓毒血症和感染性休克。5. 6. 7. 8. 9. 10. 。PCT 可作为脓毒血症的预后指标 8. 11. 12. 13，也是急性重症胰腺炎及其主要并发症的可靠指标。14. 15. 对于社区获得性呼吸道感染和空调诱导性肺炎患者，PCT 可作为抗生素选择以及疗效的判断的指标。

检测原理：

本试剂盒采用双抗体夹心 ELISA 法检测样本中降钙素原的浓度。降钙素原捕获抗体已预包被于酶标板上，当加入标本或参考品时，其中的降钙素原会与捕获抗体结合，其它游离的成分通过洗涤的过程被除去。当加入辣根过氧化物酶标记的抗人降钙素原抗体后，抗人降钙素原抗体与降钙素原接合，形成夹心的免疫复合物，其它游离的成分通过洗涤的过程被除去。最后加入显色剂，若样本中存在降钙素原将会形成免疫复合物，辣根过氧化物酶会催化无色的显色剂氧化成蓝色物质，在加入终止液后呈黄色。通过酶标仪检测，读其 450nm 处的 OD 值，降钙素原浓度与 OD₄₅₀ 值之间呈正比，通过参考品绘制标准曲线，对照未知样本中 OD 值，即可算出标本中降钙素原浓度。

人降钙素原定量分析酶联免疫检测试剂盒组成：

组分	规格 (96T/48T)
人降钙素原预包被板	12条/6条
标准品稀释液	10ml/5ml
人降钙素原标准品	2支/1支(冻干)*
抗体HRP结合物	10ml/5ml
浓缩洗涤液 20×	30ml/15ml
TMB底物	10ml/5ml
中止液	5ml/3ml
封板胶纸	3/2张
说明书	1份

标本收集：

- 标本的收集请按下列流程进行操作：
 - 细胞上清标本离心去除悬浮物后即可；
 - 血清标本应是自然凝固后，取上清，避免在冰箱中凝固血液；
 - 血浆标本，推荐用 EDTA 的方法收集若待测样本不能及时检测，
 - 标本收集后请分装，冻存于 -20℃，避免反复冻融。
- 血清标本不应添加任何防腐剂或抗凝剂；
- 标本应清澈透明，检测前样本中如有悬浮物应通过离心去除。
- 请勿使用溶血，高血脂或污染的标本检测，否则结果将不准确。

注意事项：

- 试剂盒请保存在 2~8℃。
- 浓缩洗涤液因在低温下可能有结晶，请水浴加热使结晶完全溶解后再配制工作液。
- 标准品复溶加样后，剩余部份请丢弃。



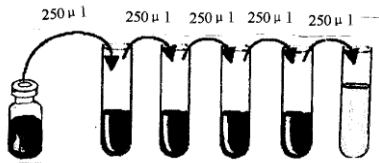
4. 底物请勿接触氧化剂和金属。
5. 加样时，请及时更换枪头，避免交叉污染。
6. 严禁混用不同批号的试剂盒组份。
7. 充分混匀对保证反应结果的准确性很重要，在加液后请轻轻叩击边缘以保证混匀。
8. 室温反应，请严格控制在25~28℃。
9. 洗涤过程是至关重要的，洗涤不充分会使精确度下降并导致结果误差较大。
10. 试验中标准品和样本检测时建议作双复孔。
11. 加样过程中避免气泡的产生。

样本的稀释：

血清或血浆样本建议从2倍开始稀释

检测前准备工作：

1. 试剂盒自冰箱中取出后应置室温（25~28℃）平衡20分钟；每次检测后剩余试剂请及时于2~8℃保存。
2. 将浓缩洗涤液用双蒸水或去离子水稀释（1份加19份水）。
3. 将检测抗体用检测抗体稀释液按标识提前10分钟配制工作浓度；
4. 如有5X准品稀释液，请按所需量用双蒸水或去离子水稀释（1份加4水）。
5. 标准品：按标签复溶体积加入标准品稀释液复溶使降钙素原终浓度达到4000ng/ml，室温反应，请严格控制在25~28℃，静置10~15分钟后轻轻混悬（建议抽取几次）待彻底溶解，用标准品稀释液倍比梯度稀释后依次加入检测孔中。（标准曲线取七个点，最高浓度为4000ng/ml，标准品稀释液直接加入作为0浓度。）下图为标准品稀释示意图。



洗涤方法：

自动洗板机或人工洗板：每孔洗涤液为300u1，注入与吸出间隔15-30秒。洗板5次。最后一次洗板完成后将板倒扣着在厚吸水纸上用力拍干。

实验过程需自备的材料：

1. 不同规格的加样枪及相应的枪头；
2. 酶标仪；
3. 自动洗板机；
4. 去离子水或双蒸水；

操作步骤：

1. 通过计算并确定一次性实验所需的板条数，取出所需板条放置在框架内，暂时用不到板条请放回铝箔袋密封，保存于4℃。
2. 建议设置本底校正孔，即空白孔，设置方法为该孔只加TMB显色液和终止液。每次实验均需做标准品对照并画出标准曲线。
3. 分别将稀释好的标本或不同浓度标准品（100u1/孔）加入相应孔中，用封板胶纸封住反应孔，室温（25~28℃）孵育120分钟。
4. 洗板5次，且最后一次置厚吸水纸上拍干。
5. 每孔加入HRP抗体结合物工作液（100u1/孔）。用封板胶纸封住反应孔，室温（25~28℃）孵育60分钟。
6. 洗板5次，且最后一次置厚吸水纸上拍干。
7. 加入显色剂TMB100u1/孔，避光室温（25~28℃）孵育20分钟。
8. 加入终止液50u1/孔，混匀后即刻测量OD₄₅₀值。

结果判断：

1. 复孔的值在20%的差异范围内结果才有效，复孔的值平均后可作为测量值。
2. 每个标准品或标本的OD值应减去本底校正孔的OD值。



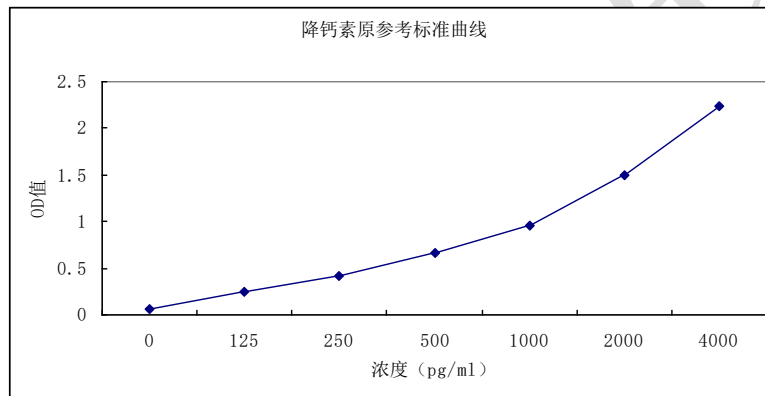
3. 手工绘制标准曲线。以标准品浓度作横坐标，OD值作纵坐标，以平滑线连接各标准品的坐标点。通过标本的OD值可在标准曲线上查出其浓度。

4. 若标本OD值高于标准曲线上限，应当稀释后重测，计算浓度时应乘以稀释倍数。

典型数值和参考曲线

浓度ng/ml	典型OD值1	典型OD值2	OD平均值
0	0.07	0.064	0.067
125	0.253	0.255	0.254
250	0.437	0.397	0.417
500	0.696	0.632	0.664
1000	1.011	0.901	0.956
2000	1.535	1.444	1.4895
4000	2.275	2.188	2.2315

人降钙素原参考标准曲线



注意：本图仅供参考，应以同次试验标准品所绘标准曲线计算标本含量。

灵敏度，特异性和重复性：

1. 灵敏度：多次重复结果表明，最小检出量为48pg/ml。
2. 特异性：与人的katalcalcin, Calcitonin, alpha-CGRP, beta-CGRP等没有交叉反应。
3. 重复性：板内，板间变异系数均<10%。

参考文献：

- 1、Lee JY, Hwang SJ, Shim JW, Jung HL, Park MS, Woo HY and Shim JY: Clinical Significance of Serum Procalcitonin on Patients with Community-acquired Lobar Pneumonia. Korean J Lab Med. 2010, 30(4): 406-13
- 2、Maruna P, Nedělníková and Gürlich R: Physiology and Genetics of Procalcitonin. Physiol. Res. 2000, 49: 57-61
- 3、Schultz MJ and Determann RM: PCT and sTREM-1: The markers of infection in critically ill patients? Med Sci Monit. 2008, 14(12): 241-247
- 4、Pecile P, Miorin E, Romanello C, Falletti E, Valent F, Giacomuzzi F and Tenore A: Procalcitonin: A Marker of Severity of Acute Pyelonephritis Among Children. Pediatrics. 2004, 114(2): 249-254
- 5、Smolkin V, Koren A, Raz R, Colodner R, Sakran W and Halevy R: Procalcitonin as a marker of acute pyelonephritis in infants and children. Pediatr Nephrol. 2002, 17: 409-41