

# 水通道蛋白抗体（AQP4 Ab）检测试剂盒（酶联免疫法）

## 【产品名称】

通用名称：水通道蛋白抗体（AQP4 Ab）检测试剂盒（酶联免疫法）

英文名称：ElisaRSR™ AQP4 Ab Version 2

## 【包装规格】

96人份/盒

## 【预期用途】

水通道蛋白抗体（AQP4 Ab）检测试剂盒（酶联免疫法），用于体外定量检测人血清中水通道蛋白抗体（AQP4 Ab）的含量。

视神经脊髓炎（Neuromyelitis optica, NMO），即德维克氏综合症（Devic's syndrome），是一种免疫介导的脊髓和视神经疾病，其区别于多发性硬化症（Multiple sclerosis, MS）。NMO患者血清中存在一种特异性的标志物，免疫球蛋白G自身抗体（NMO-IgG）。该自身抗体主要以水通道蛋白4（AQP4）为抗原。本产品除用于辅助诊断NMO，还可以用于辅助诊断视神经脊髓炎谱系疾病（Neuromyelitis optica spectrum disorders, NMOSD）。AQP4自身抗体也是NMOSD患者血清中的特异性标志物。

NMOSD包括：局限性或部分性NMO；亚洲视神经-脊髓型多发性硬化；伴全身性自身免疫性疾病的视神经炎或长节段脊髓病变；视神经炎或脊髓炎并伴有NMO典型脑核磁共振。

## 【检验原理】

本试剂盒应用酶联免疫法定量检测人血清中水通道蛋白抗体（AQP4 Ab）水平。检验原理主要是依据AQP4 Ab的Y型结构特点，位于两侧臂的抗原结合点，一侧同包被微孔的固相AQP4抗原相结合，另一侧则同随后加入的生物素化的液相AQP4抗原相结合，从而形成桥式结构。由于生物素可与过氧化物酶-链霉素亲和素结合，因此结合在微孔中的抗体水平可以利用过氧化物酶与其底物TMB的显色反应检测。添加底物TMB后产生蓝色，在黑暗中室温孵育后，添加终止液后终止反应显黄色。使用酶标仪分别在405nm和450nm波长下测定吸光度值（OD值），通过拟合的标准曲线，可以计算样品中AQP4抗体的浓度。吸光值越高说明样本中AQP4抗体浓度越大。405nm波长数据可以用于高吸光值样本的定量。检测浓度小于10 u/mL的样本应该用450nm波长数据。若只有一个检测波长，则可以使用405nm波长数据。

## 【主要组成成分】

**产品组成：**微孔板，水通道蛋白（AQP4）-生物素，水通道蛋白（AQP4）-生物素复溶缓冲液，酶结合物（SA-POD），酶结合物稀释液，底物液（TMB），浓缩洗涤液，终止液，标准品，阳性质控品

（I 和 II），阴性质控品。只有相同批号的组分，可以在不同批号试剂盒中替代使用。具体成分见下表。

**产品主要成分：**

组分名称	组分规格	主要成分
A. 微孔板	96孔	人重组AQP4 M23 亚型蛋白包被的微孔板。每个微孔板的孔架包含12条，每条8孔。
B1-5. 标准品	5×0.7mL	1.5, 5, 20, 40, 80 u/mL, AQP4抗体阳性的兔血清稀释于人血清。
C1-2. 阳性质控品（I和II）	2 x 0.7mL	AQP4抗体阳性的兔血清稀释于人血清，浓度范围见标签。
D. 阴性质控品	1 x 0.7mL	AQP4抗体阴性的人血清。
E. 水通道蛋白（AQP4）-生物素	3小瓶	冻干生物素标记重组人AQP4蛋白。
F. 水通道蛋白（AQP4）-生物素 复溶缓冲液	1x10mL	磷酸盐缓冲液。
G. 酶结合物（SA-POD）	1x0.8mL	20倍浓缩过氧化物酶标记链霉素亲和素。
H. 酶结合物稀释液	1x15mL	磷酸盐缓冲液。
I. 底物液（TMB）	1x15mL	四甲基联苯胺。
J. 浓缩洗涤液	1x120mL	10倍浓缩的Tris缓冲液。
K. 终止液	1x14mL	硫酸稀释液。

**试剂盒需要但试剂盒中未提供的材料**

能够调剂 25μL、50μL 和 100μL 的移液器。

能够配给多种体积，用以复溶或稀释的方法。

纯水

具有 405nm 和 450nm 波长的 96 孔板吸光值检测设备。

ELISA 板振荡器，500 次震动每分钟（非定轨震动器）

ELISA 板盖

**【储存条件及有效期】**

未开封试剂盒置于2℃~8℃可保存9个月。

微孔板：将未使用的微孔板条和干燥剂放回铝箔袋中，并用胶带封口，然后将铝箔袋放回自封袋中，在2℃~8℃最多可稳定16周。

生物素标记AQP4：复溶后的生物素标记AQP4需立即使用，不可储存。

酶结合物：已稀释的酶结合物在2°C~8°C最多可稳定16周。

洗涤液：已稀释的洗涤液在2°C~8°C可保存至试剂盒有效期。

试剂盒有效期详见标签。

### 【适用仪器】

酶标仪（含405nm，450nm波长）

### 【样本要求】

1. 待分析血清应该在经过分离后立即进行检测或储存（或分装成小剂量）于-20°C 或更低温度，患者血清样本在-40°C 条件下至少可稳定 3 年。单次检测需 100μL 样本（平行复孔检测，每孔 50μL）。
2. 应该避免重复冻融或储存温度升高。
3. 请勿使用脂血或溶血血清样本。
4. 请勿使用血浆进行检测。
5. 需要时，在室温下解冻待测试血清并轻轻混合以确保均匀性。
6. 检测前用离心机离心去除血清中的微粒物质（建议用微型离心机在 10,000-15,000xg 转速下离心 5 分钟）。如果血清浑浊或包含微粒时，请勿省略此离心处理步骤。

### 【检验方法】

使用前将所有试剂在室温（20~25°C）下放置至少 30 分钟，平衡温度至室温。请在步骤 2 时复溶 AQP4-生物素。建议在步骤 2，5，8 和 9 使用 Eppendorf 重复移液器。

1	分别将 50μL（平行复孔）血清样本、标准品（B1-5）、阳性质控品（C1-2）和阴性质控品（D）加至相应的微孔中，同时留置一个空白孔。
2	复溶 AQP4-生物素，并向每个孔中加入 25μL（空白孔除外）。
3	盖上车盖，用 ELISA 振荡器在室温条件下，震动 2 个小时（500 次震动每分钟）。
4	用 ELISA 洗板机将微孔中液体吸出，然后用已稀释的清洗液（J）将每个孔清洗 3 次。如需手工清洗，在合适容器上方快速翻转板条弃去微孔中液体。手工冲洗微孔三次，然后翻转板条在清洁、干燥吸水材料上轻轻拍打，去除清洗液。
5	向每个孔中加入 100μL 已稀释的 SA-POD（空白孔除外）。
6	盖上车盖，用 ELISA 振荡器在室温条件下，震动 20 分钟（500 次震动每分钟）。
7	重复清洗步骤 4。如果进行手工清洗，需另加一次纯水清洗，（去除多余泡沫），然后拍干。
8	向每个孔（包括空白孔）中加入 100μL 的 TMB（I）并在室温条件下，黑暗中反应 20 分钟。
9	向每个孔（包括空白孔）中加入 100μL 的终止液（K）并用振荡器震动 5 秒钟。保证每个孔的反应时间一致。
10	用 ELISA 酶标仪分别在 450nm 和 405nm 波长下，读取每个板孔的吸光度（在加入终止液后 10 分钟内检测），以仅含有 100μL TMB（I）和 100μL 终止液（K）的空白孔作为空白对照，用于扣除背景吸光度。

### 质量控制：

阳性质控品 I 和 II 的检测浓度应处于各自瓶身上标注的浓度范围之内。

### 【阳性判断值】

RSR 公司根据 358 份健康供血者血清检测结果，确定阳性判断值为可使该方法特异性达到 99%时，用以判断阳性样本的值。具体判断方法请参见下表。但是，我们建议使用此试剂盒的实验室应建立自己的正常及具有病理学意义的参考范围，用于 AQP4 抗体水平检测。

阴性	<3.0 u/mL
阳性	≥3.0 u/mL

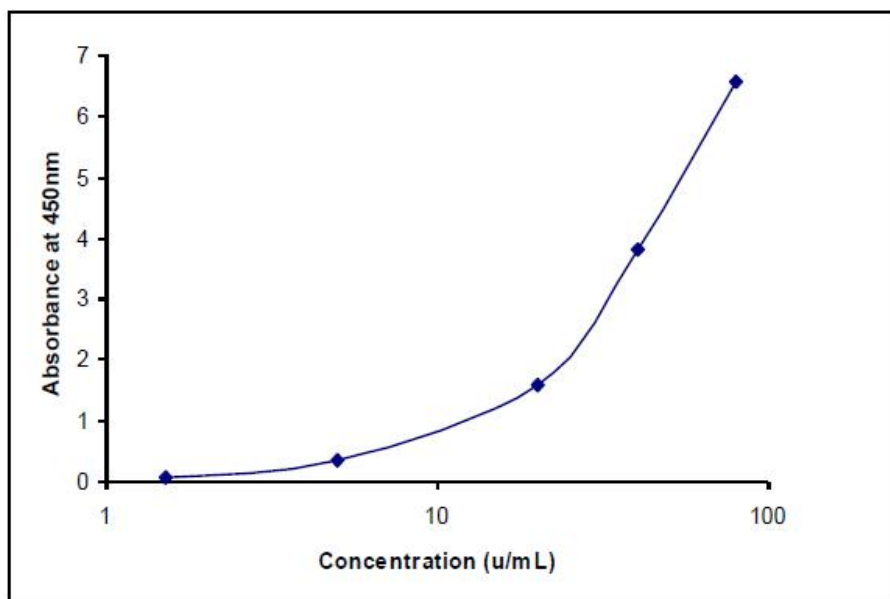
### 【检验结果的解释】

以标准品浓度（对数形式）为 X 轴，标准品的吸光度（线性形式）为 Y 轴拟合出标准曲线。样本中的 AQP4 抗体浓度可以通过标准曲线读出。RSR 绘制的标准曲线为 log/lin 曲线（平滑系数为 0）。建议取 450nm 波长数据根据样条拟合曲线计算结果。为便于分析处理实验结果，可以将阴性质控品的浓度设定为 0.15 u/mL。如果样本中的 AQP4 抗体浓度超过 80u/mL，可以用 AQP4 抗体阴性的血清稀释（例如，稀释 10 倍和/或 100 倍）。除本说明书中已声明的无干扰物质外，若待测血清中含有其他物质，则不能以线性进行稀释。

### 典型结果（仅作为范例，不用于实际结果计算）

	A450 nm	浓度 u/mL	A405 Nm	浓度 u/mL
阴性质控品（D）	0.021	N/A	0.006	N/A
标准品 B1	0.085	1.5	0.024	1.5
标准品 B2	0.354	5	0.108	5
标准品 B3	1.577	20	0.468	20
标准品 B4	3.802	40	1.118	40
标准品 B5	6.588	80	1.938	80
阳性质控品（CI）	0.755	12.1	0.224	12.0
阳性质控品（CII）	2.506	28	0.745	28

使用 450nm 吸光度计算浓度值时，当高值样本超过酶标仪读取上限时，可以使用 405nm 吸光值乘以适当系数转化成 450nm 吸光值。以上范例数据是由转换系数 3.4 所产生的。不同实验室可以根据自己的设备将 450nm 和 405nm 吸光值（去掉低值和高值样本读数）之间的比值得出转换系数，通常在 3.0 左右。



### 【检验方法的局限性】

本检测结果可供临床诊断参考。如需确诊病例，请结合临床症状及其他检测手段，不得作为临床诊断或排除的唯一依据。

### 【产品性能指标】

#### 临床特异性

本试剂盒对 358 名健康血液捐献者的血清进行测定 AQP4 抗体，其中 356 份血清测定结果为阴性，临床特异性为 99%。

#### 临床灵敏度

在 62 例视神经脊髓炎（NMO）或视神经脊髓炎谱系疾病（NMOSD）患者中，48 例为 AQP4 抗体阳性，临床灵敏度为 77%。

#### 检测限

测定阴性质控品 20 次，计算平均值和标准差。平均值加上 2 倍标准差后，检测限为 0.17u/mL。

#### 检测范围

阳性样本的检测浓度范围：3.0~80.0 u/mL（依据 RSR 浓度单位），其中线性范围为 7.0~45.0 u/mL。在此线性范围内，相关系数（R）≥0.99000。

#### 批内精密度

样本	平均值 u/mL (n=25)	CV (%)
1	3.9	7.7
2	7.0	8.6
3	28	3.2
4	58	3.1

### 批间精密度

样本	平均值 u/mL (n=25)	CV (%)
A	5.0	15.6
B	13.3	10.5
C	35	7.9
D	59	7.5

### 特异性

用本试剂盒对非视神经脊髓炎谱系疾病（NMOSD）的 205 名自身免疫疾病患者血清进行检测。结果表明，以下样本中的自身抗体对检测无明显干扰：TSH 受体（n=110）、谷氨酸脱羧酶（n=26）、21-羟化酶（n=12），乙酰胆碱受体（n=10），甲状腺过氧化物酶（n=15），甲状腺球蛋白（n=10），IA-2（n=7）或类风湿因子阳性样本（n=15）。

### 干扰样本对检测的影响

样本中含有下列物质时，检测未受到干扰：20mg/dL 胆红素或不高于 3000mg/dL 脂肪乳剂。500mg/dL 血红蛋白对检测存在干扰。

### 境内临床试验

#### 临床灵敏性

检测 NMO 或 NMOSD 样本血清，临床灵敏性为 89.1%。










#### 临床特异性

使用本试剂盒检测对照样本血清，包括不同的其他类疾病，临床特异性为 95%。

### 【注意事项】

- 1、本品仅供体外诊断使用，操作应严格按照说明书进行。
- 2、所有实验需在20~25℃下进行，应避免由日光照射机器或周围仪器发热引起的高温。
- 3、采用新的移液器吸头吸取阳性质控品、阴性质控品、标准品和单独的样本。
- 4、不能混用其他制造商的产品。
- 5、取出所需要数量的微孔板条，未使用的微孔板条密封好后，保存于2~8℃。
- 6、加入显色反应底物后，微孔板需立即放置于黑暗处。
- 7、操作前应仔细阅读本说明书并严格按照其指示操作，否则可能会导致错误的检测结果。
- 8、废弃样本和废液的处理应遵照相应的生物安全和有毒有害物质管理规定处理。

### 【标识的解释】

符号	含义
	欧盟委员会符合性说明书
	体外诊断医疗器械
	产品编号
	批号
	参阅使用说明
	生产商
	规格
	有效日期
	储存温度

### 【参考文献】

1. V. A. Lennon et al. A serum autoantibody marker of neuromyelitis optica: distinction from multiple sclerosis. *Lancet* 2004 364(9451): 2106 - 2112
2. V. A. Lennon et al. IgG marker of optic-spinal multiple sclerosis binds to the aquaporin-4 water channel. *The Journal of Experimental Medicine* 2005 202: 473 - 477
3. B. G. Weinshenker et al. Neuromyelitis optica IgG predicts relapse after longitudinally extensive transverse myelitis. *Annals of Neurology* 2006 59: 566 - 569
4. N. Isobe et al. Quantitative assays for anti-aquaporin-4 antibody with subclass analysis in neuromyelitis optica. *Multiple Sclerosis Journal* 2012 18: 1541 – 1551
5. S. Jarius et al. Testing for antibodies to human aquaporin-4 by ELISA: Sensitivity, specificity and direct comparison with immunohistochemistry. *Journal of the Neurological Sciences* 2012 320: 32 - 37

**【基本信息】**

注册人/生产企业名称：阿斯尔有限公司 RSR Limited

住所： 7 Robin Lane, High Bentham, Lancaster, LA2 7AB

生产地址： Parc Ty Glas, Llanishen, Cardiff, CF14 5DU, United Kingdom.

电话： +44 29 2068 9299

传真： +44 29 2075 7770

网址： [www.rsrltd.com](http://www.rsrltd.com)

代理人/售后服务单位名称：天津阿斯尔生物科技有限公司

住所：天津滨海高新区华苑产业区海泰发展六道 6 号海泰绿色产业基地 J 座 312 室

电话： +86 22 8372 6755

网址： [www.rsrcn.com](http://www.rsrcn.com)

**【医疗器械注册证编号/产品技术要求编号】**

国械注进201924000461

**【说明书核准及修改日期】**