



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 109313204 B

(45) 授权公告日 2022.01.21

(21) 申请号 201780037215.2

(22) 申请日 2017.06.14

(65) 同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 109313204 A

(43) 申请公布日 2019.02.05

(30) 优先权数据

16174523.7 2016.06.15 EP

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2018.12.14

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2017/064500 2017.06.14

(87) PCT国际申请的公布数据

W02017/216208 EN 2017.12.21

(73) 专利权人 豪夫迈·罗氏有限公司

地址 瑞士巴塞尔

(72) 发明人 N.戈特沙尔克 F.雅格胡贝尔
M-H.汤

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001
代理人 刘书航 申屠伟进

(51) Int.CI.
G01N 33/86 (2006.01)

审查员 林晓烨

权利要求书2页 说明书16页 附图1页

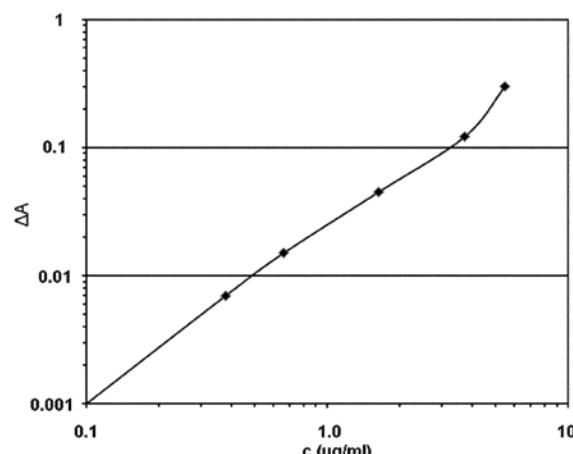
(54) 发明名称

改进的D二聚物化验校准

(57) 摘要

本发明涉及一种用于提供用于光学D二聚物化验的校准曲线的方法，包括：a) 提供具有预定的D二聚物浓度的校准器储备溶液，b) 提供至少两个校准器样本，其中从所述校准器储备溶液得到所述至少两个校准器样本，c) 确定所述D二聚物化验中的b) 的所述校准器样本的光学性质的值，d) 将所分配的浓度值分配给b) 的至少一个校准器样本，其中，分配给至少一个校准器样本的所述所分配的浓度值与所述校准器样本的所计算的浓度值偏离，以及e) 基于c) 的所述光学性质的值、d) 的一个或多个所分配的浓度值、以及用于未对其分配所分配的浓度值的校准器样本的所计算的浓度值来建立校准曲线。本发明进一步涉及一种用于基于所述校准曲线来确定样本中的D二聚物浓度的方法、与之有关的套件、设备、数据库、数据载体以及用途。

CN 109313204 B



1. 一种提供用于光学D二聚物化验的校准曲线的方法,包括:
 - a) 提供具有预定的D二聚物浓度的校准器储备溶液,
 - b) 提供至少两个校准器样本,其中,从所述校准器储备溶液得到所述至少两个校准器样本,其中,通过稀释从所述校准器储备溶液得到所有的或者除了一个之外所有的校准器样本,
 - c) 确定所述D二聚物化验中的b)的所述校准器样本的光学性质的值,
 - d) 将所分配的浓度值分配给b)的至少一个校准器样本,其中,分配给至少一个校准器样本的所述所分配的浓度值与所述校准器样本的所计算的浓度值偏离,其中所述所计算的浓度值是通过在从校准器储备溶液得到校准器样本的同时考虑所施加的稀释因子而归属于校准器样本的浓度值;并且其中通过将利用步骤c)中所使用的方法获得的校准曲线与针对所述校准器储备溶液而利用不同方法获得的、在不同设备上获得的或在不同设备型号上获得的参考校准曲线进行比较来获得所述所分配的浓度值,以及
 - e) 基于c)的所述光学性质的值,d)的一个或多个所分配的浓度值、以及用于未对其分配所分配的浓度值的校准器样本的所计算的浓度值来建立校准曲线。
2. 如权利要求1所述的方法,其中,提供至少三个校准器样本。
3. 如权利要求1所述的方法,其中,提供至少四个校准器样本。
4. 如权利要求1所述的方法,其中,提供至少五个校准器样本。
5. 如权利要求1至4中的任何一项所述的方法,其中,所分配的浓度值被分配给至少两个校准器样本。
6. 如权利要求1至4中的任何一项所述的方法,其中,所分配的浓度值被分配给至少三个校准器样本。
7. 如权利要求1至4中的任何一项所述的方法,其中,所分配的浓度值被分配给至少四个校准器样本。
8. 如权利要求1至4中的任何一项所述的方法,其中,所述光学性质是浊度和/或光学密度。
9. 如权利要求1至4中的任何一项所述的方法,其中,所述D二聚物化验包括:将所述校准器样本与专门识别D二聚物的检测试剂接触。
10. 如权利要求1至4中的任何一项所述的方法,其中,所述校准曲线是非线性的校准曲线。
11. 一种用于确定样本中的D二聚物浓度的方法,包括:
 - a) 将所述样本与专门结合到D二聚物的检测试剂接触,
 - b) 确定a)的样本和检测试剂混合物的光学性质的值,
 - c) 根据权利要求1至10中的任何一项提供校准曲线,
 - d) 基于b)中所确定的样本和检测试剂混合物的所述光学性质的值以及c)的所述校准曲线来确定所述样本中的D二聚物浓度。
12. 如权利要求11所述的方法,其中,所述校准器储备溶液和/或所述至少一个所分配的浓度值被分派给一个或多个反应剂批量。
13. 如权利要求11所述的方法,其中,所述校准器储备溶液和/或所述至少一个所分配的浓度值被分派给所述检测试剂的批量。

14. 一种用于确定样本中的D二聚物浓度的套件,所述套件包括:校准器储备溶液,其具有预定浓度的D二聚物;以及机器可读的数据载体,所述数据载体在数据处理设备上根据权利要求1到10中的任何一项所述的方法建立校准曲线当中被使用,所述数据载体包括用于通过稀释而从校准器储备溶液得到的校准器样本的至少一个所分配的浓度值,其中通过将利用所述套件获得的校准曲线与针对所述校准器储备溶液而利用不同的方法获得的参考校准曲线进行比较来获得所述所分配的浓度值。

15. 如权利要求14所述的套件,进一步包括检测试剂,其专门识别D二聚物。

16. 如权利要求14所述的套件,其中,在包括标识符的外壳中包括所述校准器储备溶液,所述标识符将所述校准器储备溶液和/或所述数据载体分派给一个或多个反应剂批量。

17. 如权利要求14所述的套件,其中,在包括标识符的外壳中包括所述校准器储备溶液,所述标识符将所述校准器储备溶液和/或所述数据载体分派给专门识别D二聚物的检测试剂的批量。

18. 一种用于确定样本中的D二聚物浓度的设备,包括:用于检测样本的光学性质的部件;以及机器可读的数据载体,所述机器可读的数据载体包括数据库,所述数据库包括用于预定义的校准样本的至少一个所分配的浓度值,所述预定义的校准样本用于D二聚物化验,其中通过稀释而从校准器储备溶液得到所述校准样本,并且其中通过将在所述设备上获得的校准曲线与针对所述校准器储备溶液而利用不同方法获得的、在不同设备上获得的、或者在不同设备型号上获得的参考校准曲线进行比较来获得所述所分配的浓度值,其中所述机器可读的数据载体操作地连接到估计单元或者包括用于根据权利要求1到10中的任何一项所述的方法建立用于D二聚物化验的校准曲线的部件的估计设备。

19. 一种机器可读的数据载体,包括数据库,所述数据库包括用于预定义的校准样本的至少一个所分配的浓度值,所述机器可读的数据载体在数据处理设备上根据权利要求1到10中的任何一项所述的方法建立校准曲线当中被使用,其中通过稀释从校准器储备溶液得到所述校准样本,并且其中通过将校准曲线与针对所述校准器储备溶液而利用不同方法获得的、在不同设备上获得的或在不同设备型号上获得的参考校准曲线进行比较来获得所述所分配的浓度值。

改进的D二聚物化验校准

技术领域

[0001] 本发明涉及一种用于提供用于光学D二聚物化验的校准曲线的方法,其包括:a) 提供具有预定的D二聚物浓度的校准器储备溶液,b) 提供至少两个校准器样本,其中,从所述校准器储备溶液得到所述至少两个校准器样本,c) 确定所述D二聚物化验中的b) 的所述校准器样本的光学性质的值,d) 将所分配的浓度值分配给b) 的至少一个校准器样本,其中,分配给至少一个校准器样本的所述所分配的浓度值与所述校准器样本的所计算的浓度值偏离,以及e) 基于c) 的所述光学性质的值、d) 的一个或多个所分配的浓度值、以及用于未对其分配所分配的浓度值的校准器样本的所计算的浓度值来建立校准曲线。本发明还涉及一种用于基于所述校准曲线来确定样本中的D二聚物浓度的方法、与之有关的套件、设备、数据库、数据载体以及用途。

背景技术

[0002] D二聚物化验是有临床意义的,因为主体的样本中的增加的D二聚物浓度指示正劣化的凝结血液的存在性,并且因此可以指示包括血栓症、栓塞和凝血病等的严重状况。在临床实践中,D二聚物化验被用于提供肺栓塞和深静脉血栓症的排除性诊断,即,低于预定截止值的D二聚物浓度指示并未遭受肺栓塞并且并未遭受深静脉血栓症的主体(Ramzi & Leeper (2004), Am. Fam. Phys 69 (12) :2829; Schutgens等人(2003), Circulation 2003;107:593-597)。最频繁地使用的D二聚物化验是使用涂敷有抗D二聚物抗体的胶乳珠的免疫浊度法化验(请对照例如,US 8,900,872 B2)。取决于样本中的D二聚物的浓度,D二聚物/抗体络合物的形成引起胶乳珠的凝聚并且引起与D二聚物浓度成比例的反应混合物的浊度的增加。

[0003] 用于凝固参数的临床化验(特别是,免疫学化验)一般要求执行校准,即建立所测量的参数(例如光度法确定的信号)与待确定的参数(例如分析物的浓度)之间的关系。通常通过确定具有已知的预定浓度的分析物的样本集合上的所测量的参数并且建立校准曲线来执行校准。取决于化验的种类,可以观测校准结果对所使用的设备、试剂的特定批次以及甚至执行校准的日期的或多或少明显的依赖性,从而建立用于每次测量的完整校准曲线是普遍实践。然而,这样的过程是劳动力和成本密集的。因此,尝试简化校准。

[0004] 在US 2007/0020765 A1中,仅利用两个校准器样本执行活化部分凝血活酶时间(APTT)化验的校准;然而,该过程要求校准曲线是线性的。在不同的方法中,单个校准调整器被用于计算针对若干个血液凝固化验中的每个样本的所测量的参数的校正值(US 8,900,872 B2)。然而,该方法要求偏离遵从被假定为是以该偏离为基础的数学表达式。

发明内容

[0005] 因此,本领域中存在针对用于校准凝固化验、避免现有技术的缺点的改进的手段和方法的需要。通过本文所公开的手段和方法来解决该问题。

[0006] 相应地,本发明涉及一种用于提供用于光学D二聚物化验的校准曲线的方法,其包

括：

- [0007] a) 提供具有预定的D二聚物浓度的校准器储备溶液，
- [0008] b) 提供至少两个校准器样本，其中，从所述校准器储备溶液得到所述至少两个校准器样本，
- [0009] c) 确定所述D二聚物化验中的b) 的所述校准器样本的光学性质的值，
- [0010] d) 将所分配的浓度值分配给b) 的至少一个校准器样本，其中，分配给至少一个校准器样本的所述所分配的浓度值与所述校准器样本的所计算的浓度值偏离，以及
- [0011] e) 基于c) 的所述光学性质的值、d) 的一个或多个所分配的浓度值、以及用于未对其分配所分配的浓度值的校准器样本的所计算的浓度值来建立校准曲线。
- [0012] 如以下所使用的那样，以非排除性的方式使用术语“具有”、“包括”或“包括有”或其任何任意符合语法的变形。因此，这些术语可以既指代其中除了由这些术语所引入的特征之外并无进一步的特征出现在该上下文中所描述的实体中的情况又指代其中一个或多个进一步的特征出现的情况。作为示例，表述“A具有B”、“A包括B”以及“A包括有B”可以既指代其中除了B之外并无其它要素出现在A中的情况(即，其中A唯一地并且排除性地由B构成的情况)又指代其中除了B之外还有一个或多个进一步的要素(诸如要素C、要素C和D或者甚至进一步的要素)出现在实体A中的情况。
- [0013] 进一步地，如以下所使用的那样，结合可选的特征使用术语“优选地”、“更优选地”、“最优选地”、“特别是”、“更特别地”、“具体地”、“更具体地”或相似的术语而并未约束进一步的可能性。因此，由这些术语引入的特征是可选的特征，并且不意图以任何方式约束权利要求的范围。如本领域技术人员将认识到的那样，可以通过使用替换的特征来执行本发明。相似地，由“在本发明的实施例中”或相似的表述引入的特征意图是可选的特征，而并非是关于本发明的进一步的实施例的任何约束、并非是关于本发明的范围的任何约束、并且并非是关于将以这样的方式引入的特征与本发明的其它可选或非可选的特征组合的可能性的任何约束。此外，如果没有另外指示，则术语“大约”与具有相关领域中的普遍接受的技术精度的所指示的值有关，优选地与所指示的值±20%、更优选地±10%、最优选地±5%有关。
- [0014] 本发明的方法采用体外方法。此外，它们可以包括除了明确提及的那些之外的步骤。例如，用于提供校准曲线的方法可以包括进一步的步骤：在步骤c)的D二聚物化验中将校准器样本与专门结合到D二聚物的检测试剂接触，和/或把在步骤e)中建立的校准曲线提供给例如本发明的设备的估计单元。此外，本发明的方法的一个或多个步骤可以由自动化装备辅助或执行。
- [0015] 如本文所使用的术语“D二聚物”与包括通过纤维蛋白的纤溶酶催化水解而生成的两个交联纤维蛋白D域的多肽有关。在实施例中，该术语与人类D二聚物有关。D二聚物分子对于本领域技术人员是已知的，如在原理上作为用于其确定的方法(Dempfle CE (2005), Semin Vasc Med 5:315-320; EP1695984A1, Example 1)。相应地，术语“D二聚物化验”与确定样本中的D二聚物的量或浓度的化验有关。在实施例中，在D二聚物化验中，确定样本中的D二聚物的浓度。在实施例中，D二聚物化验是光学化验，在进一步的实施例中是包括确定样本的光学性质的化验。如将由本领域技术人员理解的那样，在实施例中，在将所述样本与检测试剂接触之后确定所述光学性质至少一次；在进一步的实施例中，在将所述样本与检

测试剂接触之前以及之后确定所述光学性质，并且在实施例中，确定所述样本中的D二聚物的量或浓度基于在将所述样本与检测试剂接触之后所确定的所述光学性质的值与在将所述样本与检测试剂接触之前所确定的所述光学性质的值之间的差。在实施例中，术语D二聚物包括如下的D二聚物：其是纤维蛋白的剪接变异体的水解产物和/或包含D二聚物的纤维蛋白的降解产物。

[0016] 在实施例中，D二聚物化验包括：将校准器样本与专门识别D二聚物的检测试剂接触。如本领域技术人员将领会的那样，术语“专门识别”以及“专门结合”或其符合语法的变形被用于指示样本中出现的其它化合物(典型地，生物分子)并不显著结合到本发明的配体(特别是，专门识别D二聚物的检测试剂)；在实施例中，这不排除化学化合物(例如干扰化合物)对于不牵涉在与D二聚物的交互作用中的试剂的区域的结合。在实施例中，结合专门结合到除了D二聚物之外的化合物的检测试剂的水平导致至多10%、至多1%、至多0.1%或至多0.01%的对D二聚物的亲合力的结合亲合力。在实施例中，专门识别D二聚物的检测试剂是生物高分子(例如适体)。专门识别D二聚物的检测试剂具有专门结合到D二聚物的生物活性。在实施例中，专门识别D二聚物的检测试剂具有专门结合到D二聚物的至少两个域；因此，专门识别D二聚物的检测试剂在实施例中是D二聚物交联试剂。在实施例中，专门识别D二聚物的试剂专门结合到D二聚物中所包括的至少一个表位，其中，所述表位是专用于D二聚物的表位。特别是，所述表位可以是仅在纤维蛋白的纤溶酶催化水解之后变为可达到的表位；因此，表位也可以被包括在D二聚物的衍生物中，其中，D二聚物的所述衍生物是在量方面与D二聚物相关的化合物，例如，是D二聚物的降解产物。在实施例中，专门识别D二聚物的检测试剂是抗体、在实施例中是单克隆抗体、在进一步的实施例中是单克隆抗体的F(ab)₂片段。

[0017] 如本文所使用的术语“抗体”包括单克隆抗体、形成自至少两个完整抗体的多特异性抗体(例如双特异性抗体)以及抗体片段，只要它们展现如本文其它地方指定的想要的结合活性。因此，另外根据本发明的多特异性抗体例如通过结合到D二聚物的两个或更多个表位而专门结合到D二聚物。在实施例中，抗体是单克隆抗体。在实施例中，抗体是完全长度抗体或抗体片段。

[0018] 取决于它们的重链的恒定域的氨基酸序列，抗体(免疫球蛋白)可以被分配给不同的类。存在五个主类的免疫球蛋白：IgA、IgD、IgE、IgG和IgM，并且这些中的若干可以被进一步划分为子类(同型)，例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2。不同类的免疫球蛋白的亚单元结构和三维配置是熟知的并且被一般地描述于例如Abbas等人的Cellular and Mol. Immunology, 4th ed., W.B. Saunders, Co. (2000)中。抗体可以是由抗体与一个或多个其它蛋白质或肽、染料或聚合物等的共价或非共价关联所形成的更大的融合分子的部分。

[0019] 术语“完全长度抗体”、“完整抗体”以及“整个抗体”在本文中可互换地使用于指代在其实质上完整的形式下的抗体而非如以下所定义的抗体片段。这些术语特别地指代具有包含Fc区域的重链的抗体。“抗体片段”包括完整抗体的部分，在实施例中包括其抗原结合区域。抗体片段的示例包括Fab、Fab'、F(ab)₂和Fv片段；二体；线性抗体；单链抗体分子、纳米抗体以及形成自抗体片段的多特异性抗体。抗体的木瓜酶消化产生两个相同的抗原结合片段，称为“Fab”片段，每个具有单抗原结合位点以及残留“Fc”片段，其名称反映其容易结晶的能力。胃蛋白酶治疗产生F(ab)₂片段，其具有两个抗原组合位点并且仍有交联抗原的能力。“Fv”是包含完整抗原结合位点的最小抗体片段。在一个实施例中，双链Fv种类由紧密

非共价关联的一个重链可变域和一个轻链可变域的二聚物组成。在单链Fv(scFv)种类中，一个重链可变域和一个轻链可变域可以通过柔性肽链接物共价链接，以使得轻链和重链可以在类似于双链Fv种类中的“二聚”结构的“二聚”结构中关联。正是在该配置中，每个可变域的三个超可变区域(HVR)交互作用以限定抗原结合位点。共同地，六个HVR将抗原结合特异性赋予抗体。然而，甚至单个可变域(或包括专用于抗原的仅三个HVR的Fv的一半)具有识别并且结合抗原的能力，虽然是以比整个结合位点低的亲合力。术语“二体(diabodies)”指代具有两个抗原结合位点的抗体片段，该片段包括在同一多肽链中连接到轻链可变域(VL)的重链可变域(VH)(VH-VL)。通过使用太短而不允许同一链上的两个域之间的配对的链接物，域被迫使与另一链的互补域配对，并且创建两个抗原结合位点。二体可以是二价的或双特异的。二体被更完整地描述于例如EP 0 404 097、WO 1993/01161、Hudson等人的Nat. Med. 9 (2003) 129-134以及Hollinger等人的PNAS USA 90 (1993) 6444-6448中。三体和四体也描述于Hudson等人的Nat. Med. 9 (2003) 129-134中。

[0020] 术语“单克隆抗体”在本文中被用于指代从实质上同质的抗体的群获得的抗体，即，群中所包括的各单独的抗体是相同的，除了可能以微小量出现的可能变异(例如自然发生的变异)之外。因此，修饰语“单克隆”将抗体的角色指示为并非是离散抗体的混合物。在特定实施例中，这样的单克隆抗体典型地包括如下的抗体：其包括结合分析物的多肽序列，其中通过包括从多个多肽序列选择单个分析物结合多肽序列的处理来获得分析物结合多肽序列。例如，选择处理可以是从多个克隆(诸如杂交克隆、噬菌体克隆或重组DNA克隆的储集)选择独特的克隆。应当理解的是，可以进一步改动所选择的目标结合序列以例如：改进针对目标的亲合力；使目标结合序列人性化；改进其在细胞培养中的产生；减少其在活体中的免疫原性；创建多特异性抗体等，并且包括改动的目标结合序列的抗体也是本发明的单克隆抗体。与包括逆着不同的决定簇(表位)定向的不同抗体的多克隆抗体制备对比，单克隆抗体制备的每个单克隆抗体在抗原上是逆着单个决定簇定向的。除了它们的特异性之外，单克隆抗体制备也是有利的，因为它们典型地不受其它免疫球蛋白污染。

[0021] 可以通过使用描述于例如Harlow和Lane 的"Antibodies, A Laboratory Manual", CSH Press, Cold Spring Harbor, 1988中的方法来获得抗体或其片段。可以通过最初描述于Köhler和Milstein, Nature 256 (1975), 495以及Galfré, Meth. Enzymol. 73 (1981), 3中的技术来制备单克隆抗体，其包括小鼠骨髓瘤细胞与得自于免疫的哺乳动物的脾细胞的融合。

[0022] 在实施例中，专门识别D二聚物的检测试剂共价耦合到胶乳颗粒(即胶体扩散聚合物颗粒)。在另一实施例中，专门识别D二聚物的检测试剂经由生物测定配对(诸如生物素/亲合素(或链霉亲合素))以非共价方式附接到胶乳颗粒。合适的胶乳颗粒及其合适的大小对于本领域技术人员是已知的。胶乳颗粒可以在大小方面是异质的，例如，在从0.1μm到1μm(在实施例中，从0.15μm到0.50μm)的大小范围中。在实施例中，胶乳颗粒在大小方面是均匀的。

[0023] 如本文所使用的术语“校准器储备溶液”与具有D二聚物的已知的(在实施例中，预定的)浓度的D二聚物的溶液(在实施例中，水溶液)有关。如本领域技术人员将理解的那样，在实施例中，在原理上可能的是，提供已知量的D二聚物(例如重组的人类D二聚物)，并且将所述已知的量溶解在已知体积的液体中，因此提供具有已知浓度的D二聚物的校准器储备

溶液。在实施例中,通过混合已知为包括处于适当的浓度的D二聚物的样本并且通过计算或在实施例中通过凭借合适的化验确定所述混合物中的D二聚物浓度来提供校准器储备溶液。在实施例中,校准器储备溶液包括处于对应于或超过在校准期间所确定的最高D二聚物浓度的浓度的D二聚物。

[0024] 根据本发明,所提供的校准器储备溶液的数量低于用于建立本发明的校准曲线而使用的校准器样本的数量。在实施例中,提供一个单个的(即,准确地一个)校准器储备溶液,以用于建立本发明的校准曲线。在进一步的实施例中,提供一个单个的校准器储备溶液,以用于建立本发明的校准曲线,并且通过稀释来从所述单个校准器储备溶液得到所有的或所有进一步的校准样本。

[0025] 如本文所使用的那样,术语“预定的D二聚物浓度”与在建立本发明的校准曲线之时已知的D二聚物浓度(例如在执行本发明的方法之前已经确定的D二聚物浓度)有关。在实施例中,预定的D二聚物浓度是校准器储备溶液中的实际D二聚物浓度,其中,实际的D二聚物浓度是如根据Adema & Gebert (1995), Thromb Res 80:85可确定的D二聚物浓度。然而,还预期的是预定的D二聚物浓度是在不同设备上(在实施例中,在不同型号的设备上)确定的D二聚物浓度。在实施例中,预定的D二聚物浓度是设备特定的值,即为分配给所述校准器储备溶液以使得确定正确的D二聚物浓度的值。因此,在实施例中,预定的D二聚物浓度可以是如本文所指定的所分配的值。在进一步的实施例中,预定的D二聚物浓度对应于如根据Adema & Gebert而可确定的D二聚物浓度 $\pm 50\%$,在实施例中 $\pm 30\%$ 。

[0026] 如本文所使用的术语“校准器样本”与从校准器储备溶液得到的样本有关。因此,在实施例中,具有零的D二聚物浓度的校准器溶液并非是根据本发明的校准器样本。从校准器储备溶液“得到”校准器样本,以使得基于校准器储备溶液的已知的D二聚物浓度,所计算的D二聚物浓度值可以通过数学手段(在实施例中,通过基本算术运算)归属于所述校准器样本。因此,在实施例中,可以通过将已知体积的校准器储备溶液干燥到固体表面上并且将残留物溶解在已知体积的液体中来从所述校准器储备溶液得到校准器样本。在实施例中,通过稀释(特别是,通过将已知体积的校准器储备溶液与不包括D二聚物的已知体积的液体混合)来从校准器储备溶液得到校准器样本。如将理解的那样,可以进一步稀释校准器样本,以提供具有更低浓度的进一步的校准器样本;因此,稀释和连续稀释可以被用于以任何任意的组合提供本发明的校准器样本。根据本发明,提供至少两个校准器样本。如将理解的那样,特别是在应提供非线性校准曲线的情况下,可能使用进一步的校准器样本。因此,在实施例中,提供至少三个、至少四个或至少五个校准器样本。在进一步的实施例中,提供从两个到十个的校准器样本,在进一步的实施例中,提供从三个到八个的校准器样本,在进一步的实施例中,提供从四个到七个的校准器样本,在进一步的实施例中,提供五个或六个的校准器样本。在实施例中,校准器样本之一具有与校准器储备溶液相同的D二聚物浓度,即,在实施例中,校准器样本可以是未稀释的校准储备溶液。因此,在实施例中,通过稀释来从所述校准器储备溶液得到所有的或除了一个之外所有的校准器样本。

[0027] 根据本发明,校准器样本可以具有所计算的浓度值,术语“所计算的浓度值”指代如下的D二聚物的浓度值:其可以是基于校准器储备溶液中的D二聚物的预定浓度通过前述计算获得的。因此,在实施例中,所计算的浓度值是通过在从校准器储备溶液得到校准器样本的同时考虑所施加的稀释因子而归属于样本的浓度值。在实施例中,所计算的浓度值归

属于每个校准器样本；在进一步的实施例中，所计算的浓度值仅归属于并未对其分配所分配的浓度值的那些校准器样本。因此，在其中所分配的浓度值被分配给所有校准器样本的实施例中，所计算的浓度值可以不归属于任何所述校准器样本。

[0028] 根据本发明，所分配的浓度值被分配给至少一个校准器样本。如本文所使用的术语“所分配的浓度值”与归属于校准器样本的浓度值有关，其中，所述所分配的浓度值如以下在本文中所指定的那样与可以归属于所述校准器样本的所计算的浓度值偏离；相应地，表述“其中分配给至少一个校准器样本的所述所分配的浓度值与所述校准器样本的所计算的浓度值偏离”仅用于说明。如本文所使用的那样，“所分配的浓度值与所计算的浓度值偏离”意味着所分配的浓度值不同于所计算的浓度值，即，处于所计算的浓度值的技术精度的可应用范围之外。如本领域技术人员将理解的那样，例如， $1.5\mu\text{g}/\text{mL}$ 的所计算的浓度值将指示从 $1.45\mu\text{g}/\text{mL}$ 到 $1.54\mu\text{g}/\text{mL}$ 的值，并且相应地，在该示例中，所分配的浓度值将低于 $1.45\mu\text{g}/\text{mL}$ 或高于 $1.54\mu\text{g}/\text{mL}$ 。在进一步的实施例中，所分配的浓度值高于所计算的浓度值 $+5\%$ ，或者低于所计算的浓度值 -5% 。在进一步的实施例中，所分配的浓度值高于所计算的浓度值 $+10\%$ ，或者低于所计算的浓度值 -10% 。在进一步的实施例中，所分配的浓度值高于所计算的浓度值 $+15\%$ ，或者低于所计算的浓度值 -15% 。在进一步的实施例中，所分配的浓度值高于所计算的浓度值 $+20\%$ ，或者低于所计算的浓度值 -20% 。在进一步的实施例中，所分配的浓度值高于所计算的浓度值 $+50\%$ ，或者低于所计算的浓度值 -50% 。在进一步的实施例中，所分配的浓度值高于所计算的浓度值的两倍，或者低于所计算的浓度值的一半。在实施例中，所分配的浓度值被分配给多于一个的校准器样本。因此，在实施例中，所分配的浓度值被分配给至少两个（在实施例中至少三个、在进一步的实施例中至少四个、在进一步的实施例中所有的）校准器样本。根据本发明，校准器样本的每个所分配的浓度值与相应的样本的所计算的浓度值偏离，如以上所指定的那样。如将领会的那样，偏离的方向和/或程度可以在对其分配了所分配的浓度值的校准器样本之间变化；例如，在实施例中，第一校准器样本的所分配的浓度值可以小于所述第一校准器样本的所计算的浓度 -10% ，并且第二校准器样本的所分配的浓度值可以多于所述第二校准器样本的所计算的浓度 $+20\%$ 。在实施例中，偏离的程度在对其分配了所分配的浓度值的校准器样本之间变化。在进一步的实施例中，仅偏离的程度在对其分配了所分配的浓度值的校准器样本之间变化，即偏离的方向（即所分配的浓度值高于或者低于所计算的浓度值）不变化。因此，在实施例中，所有所分配的浓度值高于相应的所计算的浓度值，或者所有所分配的浓度值低于相应的所计算的浓度值。在实施例中，对其分配了与所计算的浓度值偏离的所分配的浓度值的至少一个校准器样本（i）是校准器储备溶液，和/或（ii）是通过稀释从校准器储备溶液得到的。所分配的浓度值可以是人工地分配的，例如，通过针对人工建立的校准曲线调整校准点，或者通过将所述所分配的浓度值人工输入到建立校准曲线的设备中；或者所分配的浓度值可以是以自动化方式分配的，例如，通过将条形码读入到适当地装配的设备中，所述设备包括数据库，所述数据库包括条形码和相关联的所分配的浓度值。

[0029] 因此，根据本发明，校准器样本可以已经归属于（i）所计算的浓度值、（ii）所分配的浓度值、或（iii）所计算的浓度值和所分配的浓度值。在实施例中，在所分配的浓度值归属于样本的情况下，在建立校准曲线中使用所述所分配的浓度值。

[0030] 在实施例中，通过将利用特定方法（例如免疫浊度测定方法）获得的校准曲线与利

用不同方法(例如如在本文中在上面指定的Adema & Gebert的方法)获得的参考校准曲线进行比较并且确定哪些浓度值必须被分配给(多个的)一个或多个校准器样本以便获得与参考校准曲线对应(在实施例中,实质上相同)的校准曲线来获得所分配的浓度值。在实施例中,通过将在特定设备或设备型号上利用特定方法获得的校准曲线与在不同设备或设备型号上利用所述特定方法获得的参考校准曲线进行比较并且确定哪些浓度值必须被分配给(多个的)一个或多个校准器样本以便获得与参考校准曲线对应(在实施例中,实质上相同)的校准曲线来获得所分配的浓度值。如本文所使用的那样,术语“参考校准曲线”与通过例如在已知包含特定量的D二聚物的所选择的血浆储集中确定具有D二聚物的预定的和非相同的浓度的样本中的光学性质的值而获得的校准曲线有关。在实施例中,使用非稀释的参考样本在参考测量中获得参考校准曲线。在实施例中,通过在所述D二聚物化验中确定用于具有D二聚物的预定的和非相同的浓度的至少三个样本的光学性质的值来获得所分配的浓度值。在实施例中,使用所述样本中的至少四个,在进一步的实施例中使用所述样本中的至少五个。

[0031] 在实施例中,使用相同检测试剂批次(批量)和/或相同批次(批量)的校准器储备溶液获得参考校准曲线和校准曲线。如本文所使用的那样,术语“批次”和“批量”在实施例中与在同一生产处理中生产的特定种类的完整反应剂制备有关。因此,在实施例中,校准器储备溶液和/或所获得的至少一个所分配的浓度值被分派给一个或多个反应剂批量。在实施例中,将校准器储备溶液分派给反应剂批量与预留reserve所述校准器储备溶液以用于所述反应剂批量一起使用有关。在实施例中,预留所述校准器储备溶液以用于与至少一个反应剂批量一起使用;在进一步的实施例中,预留所述校准器储备溶液以用于与多于一个的反应剂批量一起使用;在进一步的实施例中,预留所述校准器储备溶液以用于与大量的反应剂批量(特别是至少两个、在实施例中至少五个、在进一步的实施例中至少十个反应剂批量)一起使用。在实施例中,将所分配的浓度值分派给反应剂批量与指示只要所述反应剂批量被使用在D二聚物化验中所述所分配的浓度值就是可应用的有关。在实施例中,所获得的校准器储备溶液和/或至少一个所分配的浓度值被分派给在获得所述所分配的(多个)浓度值中使用的特定类型的设备(特别是设备型号)。因此,在实施例中,以批量特定和设备特定的方式确定所分配的校准值。相应地,在实施例中,例如,通过如下从而校准器储备溶液与可以与校准器储备溶液一起提供的标识符(例如编号或条形码)关联:将它打印到校准器储备溶液的外壳上或者将它包括在其封装中,所述标识符提供其应该与哪个反应剂批量一起使用的信息。在实施例中,校准器储备溶液与可以被提供在伴随所述校准器储备溶液的传单或包装插页上的标识符关联。

[0032] 如本文所使用的术语“光学性质”与其可以被由光学仪器(即检测光子的仪器)检测的性质有关。具体地,光学性质可以是或者可以包括从由如下构成的组选择的至少一个性质:反射性质,透射性质,发射性质,散射性质,荧光性质,磷光性质,衍射性质以及偏振性质。将理解的是,如本文所使用的至少一个光学性质的改变涵盖之前不可检测的性质的存在的检测、之前已经检测到的性质的缺失的检测以及性质的定量改变的检测(即与至少一个光学性质的改变的程度相关的信号强度的改变的检测)。在实施例中,如本文所提及的光学性质指代样本的浊度和/或光学密度或者与之关联的性质。在实施例中,光学性质是与由样本接收到的辐射通量对于由所述样本透射的辐射通量的比率成比例的参数(例如吸收

度);在进一步的实施例中,所确定的光学性质是吸收度与通过样本的光路径的长度的比率(即为光学密度)。将如以上定义的光学性质转换为可以作为测量值读取的物理信号的方法在本领域中是熟知的。

[0033] 术语“校准曲线”对于本领域技术人员(特别是在生物和/或临床化验的上下文中)是已知的。在实施例中,校准曲线是在D二聚物化验中所确定的值(例如光学性质的值)与分析物的数量(例如D二聚物的所计算的或所分配的浓度)之间的校准中获得的关系的图形和/或数学表示。在实施例中,校准曲线是直线或本质上是直线。在进一步的实施例中,校准曲线是非线性的,即,是在严格意义上的曲线。在进一步的实施例中,校准曲线具有至少一个拐点,在进一步的实施例中准确地具有一个拐点。因此,在实施例中,校准曲线是S型校准曲线,其中,在实施例中,校准曲线的斜率的数学符号在校准区间上不改变,并且在进一步的实施例中,校准曲线的斜率在整个校准区间上不为零。根据本发明,为了建立校准曲线,所计算的浓度值被用于未对其分配所分配的浓度值的样本,并且所分配的浓度值被用于对其分配了所分配的浓度值的样本。相应地,根据本发明的校准曲线在至少一个光学性质/浓度值配对中仅与从所计算的浓度值获得的校准曲线偏离。如本领域技术人员将理解的那样,校准曲线可以是在自动化装备辅助下人工地建立的,或者可以由自动化装备(特别是数据处理设备)建立。

[0034] 有利地,在基于本发明的工作中发现,可以通过反复调整校准器样本的浓度值以与其所计算的浓度偏离来补偿在D二聚物化验中所获得的测量中的批次到批次和/或设备型号到型号变化。通过这样做,可能的是甚至在仅提供了一个校准溶液(通过稀释从其得到进一步的校准器样本)的情况下也获得允许高精度测量的校准曲线。此外,可以确保贯穿D二聚物化验的整个测量范围的高的设备型号间再现性。

[0035] 以上作出的定义在已作必要的修正的情况下应用于以下。以下进一步作出的附加的定义和解释也在已作必要的修正的情况下应用于在本说明书中所描述的所有实施例。

[0036] 本发明进一步涉及一种用于确定样本中的D二聚物浓度的方法,包括:

[0037] a) 将所述样本与专门结合到D二聚物的检测试剂接触,

[0038] b) 确定a)的样本/检测试剂混合物的光学性质的值,

[0039] c) 根据本发明提供校准曲线,

[0040] d) 基于在b)中确定的样本/检测试剂混合物的所述光学性质的值以及c)的所述校准曲线来确定所述样本中的D二聚物浓度。

[0041] 本发明的用于确定D二聚物浓度的方法是体外方法,并且可以包括对于具体地提及的那些步骤来说的进一步的步骤。在实施例中进一步的步骤可以与如下有关:提供用于步骤a)的样本;例如通过离心法预处理样本;和/或在步骤a)之后将所述样本与进一步的试剂(例如专门识别专门结合到D二聚物的检测试剂的试剂)接触。

[0042] 如本文所使用的术语“样本”与被猜测或已知为包括本发明的D二聚物的样本有关。在实施例中,样本是被猜测为遭受血栓症(特别是深静脉血栓症)和/或遭受栓塞(特别是肺栓塞)的主体的样本,和/或是来自怀孕主体、来自产后(在已经生育之后)的主体和/或来自出现于重症监护室中的或正在重症监护室进行治疗的主体的样本。在实施例中,样本来自经历作为定期健康检查的部分的例行测量的主体。在实施例中,样本是或包括体液的样本、来自组织或器官的样本、或者清洗/漂洗流体或从外部或内部身体表面获得的拭子或

涂片的样本。在实施例中，粪便、尿、唾液、脑脊髓液、血液、血清、血浆或泪液的样本被由本发明的方法涵盖为样本。可以通过使用刷子、(棉)拭子、刮勺、漂洗/清洗液、穿刺活体设备、利用针或手术刀穿刺腔体、或者通过外科仪器来获得样本。然而，作为本发明的样本，还包括通过在实施例中包括刮擦、拭子或活体的熟知的技术而获得的样本。可以通过细胞溶解技术(诸如匀化)和/或通过分离技术(诸如过滤法或离心法)来从体液或组织或器官获得无细胞液体。在实施例中，从已知为包括本发明的D二聚物的体液获得样本，即，在实施例中，样本是血液、血浆、血清或唾液等。要理解的是，样本可以被进一步处理以便执行本发明的方法。特别地，可以通过本领域中已知的方法和手段来从样本移除细胞。在实施例中，样本是血液、血清或血浆样本，在进一步的实施例中，是血浆样本(特别是柠檬酸血浆样本)。

[0043] 如本文所使用的术语“主体”与动物(在实施例中哺乳动物，在进一步的实施例中灵长类，在进一步的实施例中人类)有关。在实施例中，根据本发明的主体是被猜测为特别是在体液中(尤其是在血液中)具有提升的D二聚物水平的主体。因此，在实施例中，主体被猜测或已知为遭受血栓症、栓塞、凝血病或引起血液D二聚物浓度增加的进一步的状况。在实施例中，主体被猜测或已知为遭受肺栓塞和/或深静脉血栓症，和/或是怀孕主体、产后(在已经生育之后的)主体和/或出现于重症监护室中的或正在重症监护室进行治疗的主体。在进一步的实施例中，主体是显示肺栓塞和/或深静脉血栓症的症状的主体，对于他们而言应当排除肺栓塞和/或深静脉血栓症的诊断。

[0044] 本领域技术人员理解如在本发明的方法的上下文中使用的术语“接触”。在实施例中，该术语与如下有关：使得本发明的化合物(特别是专门结合到D二聚物的检测试剂)与样本物理接触，由此允许检测试剂和样本交互作用。在实施例中，接触包括例如利用适当的缓冲剂附加地稀释样本。

[0045] 在用于确定D二聚物浓度的方法中，确定样本/检测试剂混合物的如在本文中在别处指定的光学性质。在实施例中，方法是免疫光度测定方法；在进一步的实施例中，方法是免疫浊度测定方法，即为在添加检测试剂之后测量样本的浊度的增加的方法。因此，在实施例中，方法是如以上在本文中指定的确定样本/检测试剂混合物的吸收度和/或光学密度的方法。

[0046] 基于本发明的样本/检测试剂混合物的光学性质的值和校准曲线来确定样本中的D二聚物浓度可以是通过由本领域技术人员认为适当的任何手段完成的。例如，在实施例中，可以通过建立校准曲线的图形表示并且通过以图形方式确定与光学性质的测量值对应的D二聚物浓度来确定D二聚物浓度。在进一步的实施例中，校准曲线被表示为数学等式，并且通过将光学性质的测量值应用于所述数学等式来计算D二聚物浓度。

[0047] 本发明还涉及一种用于确定样本中的D二聚物浓度的套件，所述套件包括：校准器储备溶液，其具有预定浓度的D二聚物；以及数据载体，其包括用于校准器样本的至少一个所分配的浓度值。

[0048] 如本文所使用的术语“套件”指代可以或可以不包装在一起的本发明的前述化合物、部件或反应剂的集合。套件的组件可以由分离的外壳(即，作为分离的部分的套件)包括，或者特别是结合剂，两个或更多个组件可以被提供在单个外壳中。此外，要理解的是，本发明的套件在实施例中用于实践以上在本文中提及的方法。在实施例中预期的是以备用方式提供组分(在实施例中，所有组分)以用于实践以上提及的方法。在实施例中，以干燥的

(诸如以冻干的形式提供所述组分的全部或一些,其中使用液体(诸如水性缓冲溶液)复原组分。在实施例中,以浓缩液体的形式提供所述组分的全部或一些,其中使用液体(诸如水性缓冲溶液)稀释浓缩的组分。进一步地,套件在实施例中包含用于执行所述方法以及执行干燥的反应剂的所述复原(如果可应用的话)的指令。指令可以是通过采用纸张或电子形式的用户的手册提供的。此外,手册可以包括用于解释当使用本发明的套件和或如以下在本文中指定的所分配的浓度值来执行前述方法时获得的结果的指令。在实施例中,套件进一步包括专门识别D二聚物的至少一个检测试剂。在进一步的实施例中,套件中的专门识别D二聚物的至少一个检测试剂被共价耦合到胶乳珠(在实施例中均匀大小的胶乳颗粒,在实施例中不同大小的胶乳颗粒);或者套件包括胶乳珠以及用于将检测试剂耦合到所述胶乳珠的部件。另外在实施例中,套件进一步包括用于执行D二聚物化验的进一步的部件(例如缓冲剂)。

[0049] 如本文所使用的那样,术语“包括至少一个所分配的浓度值的数据载体”被在宽泛的意义上使用,并且包括在物理上包括所分配的浓度的数据载体以及包括使所分配的浓度值可确定的信息的数据载体。另外,包括至少一个所分配的浓度值的数据载体可以是人类可读和/或机器可读的。相应地,包括至少一个所分配的浓度值的数据载体可以是指示可应用的所分配的浓度的打印信息以及对如下的指示:例如通过在手册中包括所述信息从而对于人类读取而言所述所分配的浓度值对于其可应用的校准样本。然而,包括至少一个所分配的浓度值的数据载体在实施例中也可以是人类和/或机器可读的标识符(例如条形码或RFID设备);所述标识符在实施例中标识校准器储备溶液的批次,使得在适当的数据库中可以标识可应用的所分配的浓度值以及所述所分配的浓度值对于其可应用的校准样本。在实施例中,套件中所包括的同一个或进一步的标识符将所述校准器储备溶液和/或包括至少一个所分配的浓度值的所述数据载体分派给一个或多个反应剂批量(特别是专门识别D二聚物的检测试剂的批量)。因此,在实施例中,在包括标识符的外壳中包括校准器储备溶液,所述标识符将所述校准器储备溶液和/或所述数据载体分派给一个或多个反应剂批量(特别是专门识别D二聚物的检测试剂的批量)。在进一步的实施例中,套件中所包括的同一个或进一步的标识符将所述校准器储备溶液和/或包括至少一个所分配的浓度值的所述数据载体分派给一个或多个的(多个)设备型号。

[0050] 本发明进一步涉及一种用于确定样本中的D二聚物浓度的设备,其包括:用于检测样本的光学性质的部件;以及机器可读数据载体,其包括数据库,所述数据库包括用于预定义的校准样本的至少一个所分配的浓度值,所述预定义的校准样本用于D二聚物化验。如在本文中其它地方指定的那样,被分配给至少一个校准器样本的所分配的浓度值与所述校准器样本的所计算的浓度值偏离。

[0051] 如本文所使用的术语“设备”与包括被可操作地链接到彼此以允许获得确定的结果的至少前述的部件的部件的系统有关。以上与本发明的方法有关地公开了用于将样本与检测试剂接触的优选的部件。如何以操作方式链接部件将取决于包括到设备中的部件的类型。在实施例中,各部件被单个设备所包括。

[0052] 在实施例中,样本处理单元包括用于样本的容器。容器可以直接接触样本,或者可以是用于容纳有样本的进一步的部件的容器,其中进一步的部件可以是例如一个样本或多个样本可以被应用于其的多井板。此外,样本处理单元在实施例中包括例如在连接到投药

部件的贮存器(例如连接到泵的管材)中的校准器储备溶液。在进一步的实施例中,设备包括具有预定的D二聚物浓度的一个校准器储备溶液;因此,在实施例中,设备包括仅一个(即,准确地一个)校准器储备溶液。在实施例中,样本处理单元进一步包括例如采用干燥形式的或在连接到投药部件的贮存器(例如连接到泵的管材)中的至少一个检测器化合物。在进一步的实施例中,样本处理单元包括用于混合的部件以及用于调整反应混合物的温度的部件。

[0053] 在实施例中,通过在适当的检测单元上执行检测测量来获得确定的结果。因此,在实施例中,本发明的设备的分析单元进一步包括检测单元,用于检测样本的以及样本/检测试剂混合物的光学性质。根据本发明的适合作为检测单元的部件对于本领域技术人员是已知的并且包括例如光度测定设备。

[0054] 本发明的设备进一步包括机器可读数据载体,其包括数据库,所述数据库包括用于预定义的校准样本的至少一个所分配的浓度值,所述预定义的校准样本用于D二聚物化验。在实施例中,所述机器可读数据载体被操作地连接到估计单元或估计设备。

[0055] 在实施例中,本发明的设备进一步包括估计单元或者是分析系统的部分,所述分析系统进一步包括估计设备。本领域技术人员将理解的那样,估计部件可以被包括在与本发明的设备相同的外壳中而作为估计单元,或者可以是分离的设备(即估计设备)。在实施例中,估计单元或设备包括微处理器,其被编程为从本发明的分析单元的输出单元接收输出数据并且执行提供所述输出数据的估计的逻辑操作。输出数据的估计例如可以包括:针对在一个或多个控制检测反应、统计计算(例如,两个或更多个并行的检测反应的计算部件)中测量的值来校正数据;例如通过将稀释因子应用于校准器储备溶液的浓度来提供所计算的浓度值;将输出数据与参考值进行比较;以及将数据编译在列表中等。在实施例中,估计设备进一步包括数据存储单元。在进一步的实施例中,所述数据存储单元包括例如在如参考值数据库中的参考值。此外,在实施例中,数据存储单元被适配为存储从本发明的设备接收到的输出数据,如以上指明的那样。在实施例中,估计单元或设备包括用于基于如下来建立用于D二聚物化验的校准曲线的部件:由分析单元确定的光学性质的值;提供在设备的机器可读数据载体上的一个或多个所分配的浓度值;以及由估计单元或设备所提供的用于未对其分配所分配的浓度值的校准器样本的所计算的浓度值。在进一步的实施例中,估计单元或设备包括用于基于由分析单元确定的样本/检测试剂混合物的光学性质的值以及由估计单元或设备提供的校准曲线来确定样本中的D二聚物浓度的部件,如以上指明的那样。

[0056] 在实施例中,本发明的设备进一步包括数据输出单元,其被连接到检测单元和/或估计单元或设备。数据输出单元在实施例中被适配为输出由检测单元获得的或由估计单元或设备生成的数据。合适的数据输出单元对于本领域技术人员是已知的,并且包括简单的输出单元(诸如指示检测到增加的D二聚物浓度的指示符灯或显示器)。然而,输出单元也可以是对输出设备的接口,其中所述接口可以是任何种类的传送数据的部件,包括例如缆线连接(如USB)、无线连接(如无线LAN和蓝牙等)或间接连接(诸如通过即时传信或电子邮件等的数据传送)。

[0057] 在实施例中,在应用用于自动地检测D二聚物浓度的部件的情况下,通过所述自动操作部件获得的数据可以由例如计算机程序处理以便建立或辅助建立诊断(例如,标识未遭受血栓症以及未遭受栓塞的主体)。与有关于以上的本发明的方法的实施例相关地公开

了用于检测的典型部件。在这样的情况下，部件被操作地链接，因为系统的用户归因于手册中给出的指令和解释而使量的确定的结果和其诊断值相结合。本领域技术人员将认识到如何在没有进一步的创新技巧的情况下链接部件。典型的设备是可以在没有专业化的临床医生的特定知识的情况下应用的那些设备（例如仅要求加载有样本的电子设备）。结果可以是作为参数诊断原始数据的输出给出的，在实施例中被给出为绝对的或相对的量。要理解的是这些数据将需要由临床医生解释。然而，还预期了专家系统设备，其中输出包括处理后的诊断原始数据，其解释不要求专业化的临床医生。

[0058] 本发明进一步涉及一种具有用于确定样本中的D二聚物浓度的所分配的浓度值的至少一个校准样本的用途。如将从以上理解的那样，所述用途在实施例中还包括使用具有所分配的浓度值的至少两个校准样本，在进一步的实施例中使用具有所分配的浓度值的至少三个校准样本，在进一步的实施例中使用具有所分配的浓度值的至少四个校准样本，在进一步的实施例中使用具有所分配的浓度值的至少五个校准样本，以用于确定样本中的D二聚物浓度。

[0059] 本发明还涉及一种数据库，其包括用于预定义的校准样本的至少一个所分配的浓度值。在实施例中，所述数据库进一步包括用于包括专门识别D二聚物的检测试剂的组份的至少一个批量的标识符。此外，本发明涉及一种数据载体，其包括本发明的数据库。

[0060] 本发明进一步公开并且提出了一种计算机程序，其包括计算机可执行指令，用于当在分析设备、计算机或计算机网络上执行程序时执行在本文中所包入的实施例中的一个或多个中的根据本发明的方法。具体地，计算机程序可以被存储在计算机可读数据载体上。因此，具体地，可以通过使用计算机或计算机网络、优选地通过使用计算机程序来执行一个、多于一个或甚至所有的如以上所指示的方法步骤。

[0061] 本发明进一步公开并且提出了一种计算机程序产品，其具有程序代码部件，以便当在分析设备、计算机或计算机网络上执行程序时执行在本文中所包入的实施例中的一个或多个中的根据本发明的方法。具体地，程序代码部件可以被存储在计算机可读数据载体上。

[0062] 进一步地，本发明公开并且提出了一种数据载体，其具有存储于其上的数据结构，所述数据结构在加载到计算机或计算机网络中（诸如加载到计算机或计算机网络的工作存储器或主存储器中）之后可以执行根据本文所公开的实施例中的一个或多个的方法。

[0063] 本发明进一步提出并且公开了一种计算机程序产品，其具有存储在机器可读载体上的程序代码部件，以便当在计算机或计算机网络上执行程序时执行根据本文所公开的实施例中的一个或多个的方法。如本文所使用的那样，计算机程序产品指代作为可交易的产品的程序。产品可以一般地以任意格式（诸如以纸张格式，或者在计算机可读数据载体上）存在。具体地，计算机程序产品可以被分布在数据网络上。

[0064] 最后，本发明提出并且公开了一种经调制的数据信号，其包含由计算机系统或计算机网络可读取的指令，以用于执行根据本文所公开的实施例中的一个或多个的方法。

[0065] 在实施例中，参照计算机实现的本发明的各方面，可以通过使用计算机或计算机网络来执行根据本文所公开的实施例中的一个或多个的方法中的一个或多个方法步骤或者甚至所有的方法步骤。因此，一般地可以通过使用计算机或计算机网络来执行包括数据的提供和/或操控的任何的方法步骤。一般地，典型地除了要求人工工作的方法步骤（诸如

提供样本和/或执行实际测量的特定方面)之外,这些方法步骤可以包括任何的方法步骤。

[0066] 具体地,本发明进一步公开了:

[0067] -一种计算机或计算机网络,其包括至少一个处理器,其中处理器被适配为执行根据在本描述中所描述的实施例之一的方法,

[0068] -一种计算机可加载的数据结构,其被适配为在计算机上正执行数据结构的同时执行根据本描述中所描述的实施例之一的方法,

[0069] -一种计算机程序,其中计算机程序被适配为在计算机上正执行程序的同时执行根据本描述中所描述的实施例之一的方法,

[0070] -一种计算机程序,其包括程序部件,程序部件用于在计算机上或者在计算机网络上正执行计算机程序的同时执行根据本描述中所描述的实施例之一的方法,

[0071] -一种计算机程序,其包括根据前述实施例所述的程序部件,其中程序部件被存储在对于计算机可读的存储介质上,

[0072] -一种存储介质,其中数据结构被存储在存储介质上,并且其中数据结构被适配为在已经被加载到计算机或计算机网络的主存储和/或工作存储中之后执行根据本描述中所描述的实施例之一的方法,以及

[0073] -一种计算机程序产品,其具有程序代码部件,其中程序代码部件可以被存储或者被存储在存储介质上,以用于如果在计算机上或计算机网络上执行了程序代码部件则执行根据本描述中所描述的实施例之一的方法。

[0074] 鉴于以上,特定地预期以下的实施例:

[0075] 1. 一种用于提供用于光学D二聚物化验的校准曲线的方法,包括:

[0076] a) 提供具有预定的D二聚物浓度的校准器储备溶液,

[0077] b) 提供至少两个校准器样本,其中从所述校准器储备溶液得到所述至少两个校准器样本,

[0078] c) 确定所述D二聚物化验中的b)的所述校准器样本的光学性质的值,

[0079] d) 将所分配的浓度值分配给b)的至少一个校准器样本,其中,被分配给至少一个校准器样本的所述所分配的浓度值与所述校准器样本的所计算的浓度值偏离,以及

[0080] e) 基于c)的所述光学性质的值,d)的一个或多个所分配的浓度值、以及用于未对其分配所分配的浓度值的校准器样本的所计算的浓度值来建立校准曲线。

[0081] 2. 如实施例1所述的方法,其中,提供至少三个、在实施例中至少四个、在进一步的实施例中至少五个校准器样本。

[0082] 3. 如实施例1或2所述的方法,其中,通过稀释来从所述校准器储备溶液得到所有的或者除了一个之外的所有校准器样本。

[0083] 4. 如实施例1至3中的任何一项所述的方法,其中,所分配的浓度值被分配给至少两个、在实施例中至少三个、在进一步的实施例中至少四个校准器样本。

[0084] 5. 如实施例1至4中的任何一项所述的方法,其中,对其分配了与所计算的浓度值偏离的所分配的浓度值的所述至少一个校准器样本(i)是校准器储备溶液,和/或(ii)是通过稀释从校准器储备溶液得到的。

[0085] 6. 如实施例1至5中的任何一项所述的方法,其中,所述光学性质是浊度和/或光学密度。

[0086] 7. 如实施例1至6中的任何一项所述的方法,其中,所述D二聚物化验包括将所述校准器样本与专门识别D二聚物的检测试剂接触。

[0087] 8. 如实施例7所述的方法,其中,专门识别D二聚物的所述检测试剂是抗体,在实施例中是单克隆抗体,在进一步的实施例中是单克隆抗体的F(ab)2片段。

[0088] 9. 如实施例7或8所述的方法,其中,专门识别D二聚物的所述检测试剂共价耦合到胶乳颗粒。

[0089] 10. 如实施例1至9中的任何一项所述的方法,其中,所述校准曲线是非线性的校准曲线。

[0090] 11. 如实施例1至10中的任何一项所述的方法,其中,通过在所述D二聚物化验中确定用于具有D二聚物的预定的并且非相同浓度的至少三个样本的光学性质的值来获得所述所分配的浓度值。

[0091] 12. 如实施例1至11中的任何一项所述的方法,其中,所述校准器储备溶液和/或所述至少一个所分配的浓度值被分派给一个或多个反应剂批量。

[0092] 13. 一种用于确定样本中的D二聚物浓度的方法,包括:

[0093] a) 将所述样本与专门结合到D二聚物的检测试剂接触,

[0094] b) 确定a)的样本/检测试剂混合物的光学性质的值,

[0095] c) 根据实施例1至11中的任何一项提供校准曲线,

[0096] d) 基于b)中所确定的样本/检测试剂混合物的所述光学性质的值以及c)的所述校准曲线来确定所述样本中的D二聚物浓度。

[0097] 14. 如实施例13所述的方法,其中,所述方法是免疫光度测定方法。

[0098] 15. 如实施例13或14所述的方法,其中,所述方法是免疫浊度方法。

[0099] 16. 如实施例13至15中的任何一项所述的方法,其中,所述校准器储备溶液和/或所述至少一个所分配的浓度值被分派给一个或多个反应剂批量,特别是所述检测试剂的批量。

[0100] 17. 一种用于确定样本中的D二聚物浓度的套件,所述套件包括:校准器储备溶液,其具有预定浓度的D二聚物;以及数据载体,其包括用于校准器样本的至少一个所分配的浓度值。

[0101] 18. 如实施例17所述的套件,进一步包括检测试剂,其专门识别D二聚物。

[0102] 19. 如实施例18所述的套件,其中,专门识别D二聚物的所述检测试剂是抗体。

[0103] 20. 如实施例18或19所述的套件,其中,专门识别D二聚物的所述试剂共价耦合到胶乳颗粒(在实施例中,不同大小的胶乳颗粒)。

[0104] 21. 如实施例17至20中的任何一项所述的套件,其中,在包括标识符的外壳中包括有所述校准器储备溶液,所述标识符将所述校准器储备溶液和/或所述数据载体分派给一个或多个反应剂批量(特别是专门识别D二聚物的检测试剂的批量)。

[0105] 22. 一种用于确定样本中的D二聚物浓度的设备,包括:用于检测样本的光学性质的部件;以及机器可读数据载体,其包括数据库,所述数据库包括用于预定义的校准样本的至少一个所分配的浓度值,所述预定义的校准样本用于D二聚物化验。

[0106] 23. 如实施例22所述的设备,其中,所述设备进一步包括具有预定的D二聚物浓度的一个校准器储备溶液。

[0107] 24. 具有用于确定样本中的D二聚物浓度的所分配的浓度值的至少一个校准样本的用途。

[0108] 25. 一种数据库,其包括用于预定义的校准样本的至少一个所分配的浓度值。

[0109] 26. 如实施例25所述的数据库,其中,所述数据库进一步包括标识符,其用于包括专门识别D二聚物的检测试剂的组份的至少一个批量。

[0110] 27. 一种数据载体,其包括如实施例25或26所述的数据库。

[0111] 28. 如实施例3至12中的任何一项所述的方法,其中,所计算的浓度值是通过在从校准器储备溶液得到校准器样本的同时考虑所施加的稀释因子而归属于样本的浓度值。

[0112] 29. 如实施例1至12以及28中的任何一项所述的方法,其中,通过将利用步骤c)中使用的方法所获得的校准曲线与利用不同方法获得的、在不同设备上获得的或者在不同的设备型号上获得的参考校准曲线进行比较来获得所述所分配的浓度值。

[0113] 30. 如实施例17至21中的任何一项所述的套件、实施例22或23所述的设备、实施例24所述的用途、实施例25或26所述的数据库,其中,优选地通过稀释来从校准器储备溶液得到所述校准样本。

[0114] 本说明书中引述的所有引文被关于它们的整体公开内容以及本说明书中具体地提及的公开内容而通过引用合并于此。

附图说明

[0115] 图例

[0116] 图1:根据本发明的方法获得的校准曲线。x轴:以 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 为单位的D二聚物浓度; y轴:在吸收度上的改变(ΔA)。该图示出在t411仪器上的典型的校准曲线。根据上面描述的方法确定被用于构造该校准曲线的储备溶液和稀释的校准器值。具有最高的d二聚物浓度的数据点取自于校准器储备溶液,而具有更低浓度的数据点是从在仪器上的校准器储备的自动化稀释之后的所分配的值得到的

[0117] 以下的示例应当仅仅说明本发明。其无论如何不应当被解释为限制本发明的范围。

具体实施方式

[0118] 示例1:校准

[0119] 为了在cobas t411仪器上校准D二聚物化验,以1:1、1:2、1:4、1:8以及1:16的比率由仪器自动地稀释校准器储备溶液,以生成四个进一步的校准器样本。在包括以下步骤的标准化过程期间,反应剂批量特定的目标值(所分配的浓度值)被分配给每个校准器样本:

[0120] 1) 第一步骤是建立人类血浆储集作为辅校准器。生成储集,其中目的是覆盖其中应当执行标准化的目标仪器(在该示例中,Roche的cobas t411)上的D二聚物化验的主要测量范围。为此目的,使用新鲜人类血浆生成八个血浆储集。使用所建立的临床化学系统(在此情况下,Roche的cobas c501)来获得这些血浆储集的主目标值(浓度值)。

[0121] 2) 在第二步骤中,血浆储集被用于将D二聚物反应剂批量特定的目标值(所分配的浓度)分配给D二聚物校准器储备溶液的各个批量。为此目的,如示例2中所指定的那样在cobas t411上测量血浆储集,并且在储集的所测量的值与所分配的值之间计算方法比较

(Pasing-Bablok)。通过将方法比较曲线拟合为尽可能接近优化的回归线直到有允许满足最窄规范的方法比较的重新计算,从而单独地调整cobas t411仪器上的各单独的校准设置点的目标值。

[0122] 该过程被针对要由消费者使用的D二聚物反应剂批量和D二聚物校准器储备溶液的每种组合来执行,并且允许cobas t411对于临床化学分析器c 501的优良的可比较性。

[0123] 示例2:测量

[0124] 为了运行D二聚物测试,使用商业上可获得的D二聚物反应剂、D二聚物校准器溶液或校准器储备溶液以及两个D二聚物控件(全部来自Roche Diagnostics)。

[0125] 为了运行Roche的D二聚物化验之一,一般地将人类血浆或血清的可分量吸取到试管,以将D二聚物反应剂与包含250mmol/L TRIS/HC1缓冲剂的缓冲剂R1接触。随后,包含涂敷有单克隆抗人类D二聚物的胶乳颗粒的反应剂R2添加到该混合物,以发起免疫浊度测定反应。作为替换,也可以通过将样本添加到反应剂R1和R2来启动免疫浊度测定反应。人类样本中所包含的D二聚物通过胶乳珠上涂敷的抗体交联,造成珠的凝聚。这导致由仪器的光度计单元所检测的样本的吸收度上的改变,并且因此允许确定以[$\mu\text{g FEU}/\text{ml}$]为单位的所测试的样本中的D二聚物浓度。

[0126] 在其中应当执行标准化的目标仪器(在该示例中,Roche的cobas t411)上,利用30 μl 咪唑缓冲剂稀释20 μl 人类血浆和80 μl R1反应剂,然后添加70 μl R2反应剂,并且免疫浊度测定反应发生。

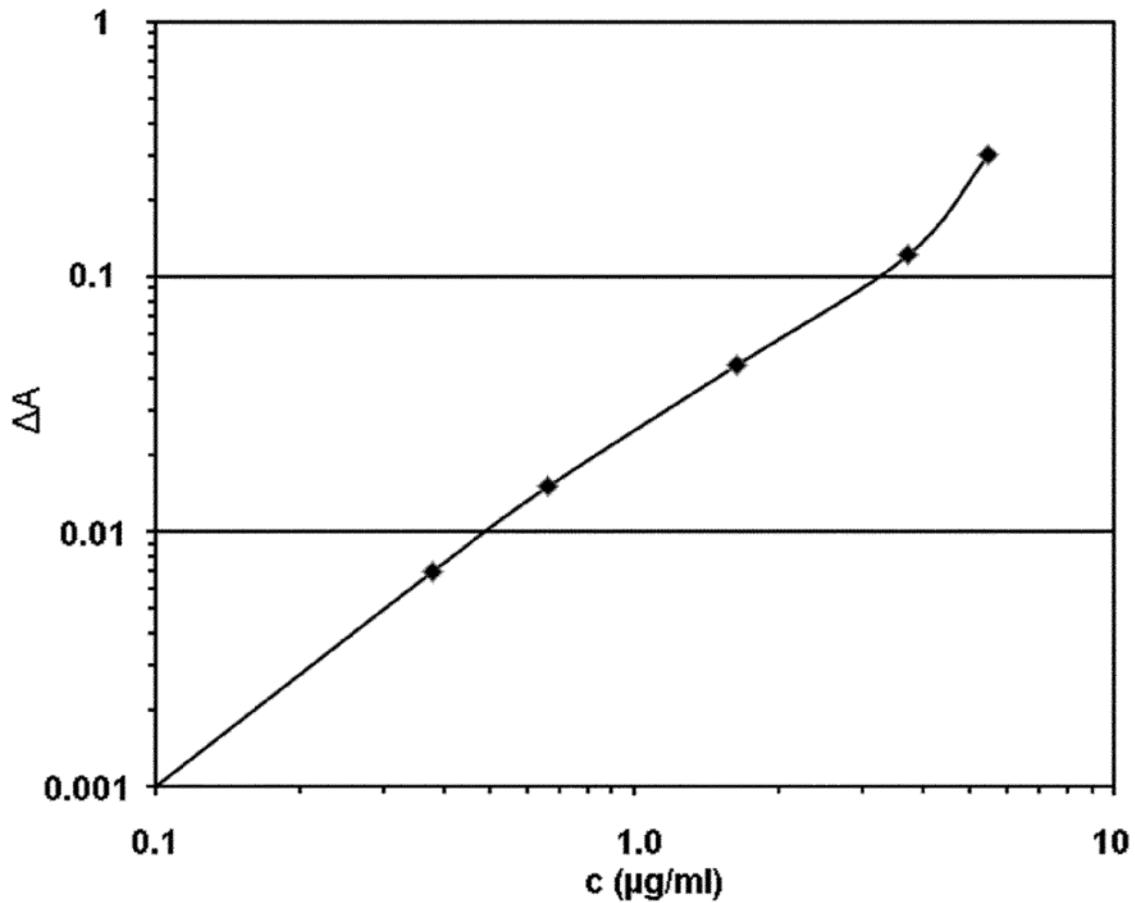


图 1