(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 101846685 A
(43)申请公布日 2010.09.29

(21)申请号 201010191097.0

(22)申请日 2010.06.03

(71)申请人 中国海洋大学
地址 266100 山东省青岛市崂山区松岭路 238 号

(72)发明人 战文斌 林听听 邢婧 绳秀珍

(74)专利代理机构 青岛海昊知识产权事务所有限公司 37201
代理人 王铎

(51)Int.Cl.
G01N 33/577(2006.01)
G01N 33/531(2006.01)

权利要求书 1 页 说明书 5 页 附图 2 页

(54)发明名称

栉孔扇贝血细胞的酶联免疫检测试剂盒及其制备方法

(57)摘要

本发明公开了一种栉孔扇贝血细胞的酶联免疫检测试剂盒及其制备方法，该试剂盒包括酶标板、封闭液、洗涤液、酶标记抗体、pNPP 底物显色液、磷酸盐缓冲液、血细胞抗凝剂、栉孔扇贝血细胞单克隆抗体、血细胞标准样品；所述试剂盒的制备方法包括以下步骤：栉孔扇贝血细胞标准样品的制备，血细胞单抗的制备，抗原与抗体最佳使用比例的优化，以及检测结果评估标准的建立。本发明的检测结果可通过所建立的评估标准的判定，评估待检扇贝受病原感染或环境胁迫等的可能，从而为监测扇贝健康状况提供依据。

CN 101846685 A

1. 一种栉孔扇贝血细胞的酶联免疫检测试剂盒，包括酶标板，封闭液，洗涤液，酶标记抗体，pNPP 底物显色液，磷酸盐缓冲液，血细胞抗凝剂，其特征在于所述的试剂盒还包括抗栉孔扇贝血细胞单克隆抗体，血细胞标准样品。

2. 根据权利要求 1 所述的栉孔扇贝血细胞酶联免疫检测试剂盒，其特征在于：所述的抗栉孔扇贝血细胞单克隆抗体是通过收集抗栉孔扇贝血细胞的单克隆杂交瘤细胞 1F7 的培养上清液，过 Protein G- 琼脂糖亲和层析柱，浓缩、透析、纯化制得。

3. 根据权利要求 1 所述的栉孔扇贝血细胞酶联免疫检测试剂盒，其特征在于：所述的栉孔扇贝血细胞标准样品是通过抽取健康栉孔扇贝的血淋巴，离心得到血细胞，重悬，超声波破碎制得。

4. 根据权利要求 1 所述的栉孔扇贝血细胞酶联免疫检测试剂盒，其特征在于：所述的封闭液为含 3.0% (w/v) 牛血清白蛋白的磷酸盐缓冲液。

5. 根据权利要求 1 所述的栉孔扇贝血细胞酶联免疫检测试剂盒，其特征在于：所述的洗涤液为含 0.1% (v/v)Tween-20 的磷酸盐缓冲液。

6. 根据权利要求 1 所述的栉孔扇贝血细胞酶联免疫检测试剂盒，其特征在于：所述的酶标记抗体为碱性磷酸酶标记的羊抗小鼠 IgG 抗体。

7. 根据权利要求 1 所述的栉孔扇贝血细胞酶联免疫检测试剂盒，其特征在于：所述的血细胞抗凝剂为含 0.02M EDTA 的磷酸盐缓冲液。

8. 一种权利要求 1 所述的栉孔扇贝血细胞酶联免疫检测试剂盒的制备方法，其特征在于：所述的方法包括以下步骤：制备栉孔扇贝血细胞标准样品；以血细胞标准样品为抗原免疫小鼠，制备血细胞单克隆抗体；选取 1 株免疫荧光反应结果为强阳性，且能与各种类型血细胞特异性结合的单克隆抗体作为权利要求 1 所述的试剂盒的抗栉孔扇贝血细胞单克隆抗体；优化抗原与抗体的最佳使用比例；建立检测结果的评估标准。

9. 根据权利要求 8 所述的栉孔扇贝血细胞酶联免疫检测试剂盒的制备方法，其特征在于：所述的 1 株免疫荧光反应结果为强阳性，且能与各种类型血细胞特异性结合的单克隆抗体是单抗 1F7。

10. 根据权利要求 8 所述的栉孔扇贝血细胞酶联免疫检测试剂盒的制备方法，其特征在于：所述的检测结果评估标准是通过高温和病原的刺激，采集各刺激条件下的血细胞样品，酶联免疫吸附法检测其血细胞的数量变化，所得结果通过统计学方法分析，获得受病原感染和环境胁迫的临界范围确定而成。

栉孔扇贝血细胞的酶联免疫检测试剂盒及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种应用单克隆抗体定量检测栉孔扇贝(Chlamys farreri)血细胞的酶联免疫(ELISA)检测试剂盒及其制备方法,属于贝类分子免疫学技术领域。

背景技术

[0002] 贝类缺乏免疫球蛋白和特异性免疫,其免疫防御过程是由血细胞和血淋巴中的体液因子协同完成。血细胞通过自溶、聚集、吞噬、包囊、胞吐、氧化杀伤等方式,达到识别、包裹和清除外来异物的目的;血细胞还能通过释放溶菌素、凝集素、调理素等物质来调理辅助体液因子免疫,其在贝类抵御外界环境刺激及外来病原微生物侵袭的过程中起着关键作用。

[0003] 栉孔扇贝是我国北方沿海贝类养殖的重要经济种类。近年来病害频发,已逐渐成为限制栉孔扇贝养殖业可持续发展的因素之一。目前栉孔扇贝多采用海上筏式笼养等养殖方式,但在广阔的水域中对病害的发生、预防和流行的控制困难较大,因而对贝类健康状况的监测显得尤为重要。已有研究发现,环境因子的变化和病原的侵袭可引起扇贝血细胞数量的显著变化。本课题组研究发现,扇贝经饥饿、高温或病原刺激后,其血细胞数量要明显低于未刺激的正常扇贝;此外,马洪明等[高技术通讯,2006:16(7),745-751]也报道扇贝经盐度突降或细菌感染后,其血细胞数量会骤减;一些国外学者也在其他贝类研究中发现:贝类经 Cu^{2+}、Pb^{2+},干露,缺氧等刺激后,血细胞数量会明显低于某一正常值,有些甚至死亡。因此,血细胞数量的变动可以作为一个评估扇贝受病原感染或环境胁迫等的检测指标。

[0004] 目前检测血细胞数量变动的方法主要有血球计数板法和流式细胞仪法。血球计数板法误差大、主观性强、不适用于大规模样品检测;流式细胞仪法价格昂贵,耗材费用高,需专门的技术人员操作、且对样品的针对性不强,易将杂质碎片误认为血细胞。单克隆抗体(以下简称:单抗)具有特异性强、灵敏度高等特点常被应用于免疫细胞的定位和病原的定量研究中。

发明内容

[0005] 针对上述问题,本发明的一个目的是提供一种特异性强、精确度高、灵敏度高、重复性好的应用抗栉孔扇贝血细胞单抗来检测血细胞数量变化的酶联免疫(ELISA)检测试剂盒,以期评估养殖扇贝受病原感染或环境胁迫等的可能,为监测扇贝健康状况提供依据。

[0006] 本发明的另一个目的是提供上述栉孔扇贝血细胞 ELISA 检测试剂盒的制备方法。

[0007] 本发明的 ELISA 检测试剂盒包括:酶标板,封闭液,洗涤液,酶标记抗体,pNPP 底物显色液,磷酸盐缓冲液(PBS),血细胞抗凝剂,其特征在于所述的试剂盒还包括抗栉孔扇贝血细胞单抗,血细胞标准样品。

[0008] 其中所述的抗栉孔扇贝血细胞单抗是通过收集抗栉孔扇贝血细胞的单克隆杂交瘤细胞 1F7 的培养上清液,过 Protein G-琼脂糖亲和层析柱,浓缩、透析、纯化制得,其特征在于所述的单抗能与栉孔扇贝各种类型血细胞(透明血细胞、颗粒血细胞)特异性结合;

[0009] 所述的血细胞标准样品是通过收集健康扇贝的血细胞，经重悬、超声波破碎后制得；

[0010] 所述的封闭液为含 3.0% (w/v) 牛血清白蛋白的 PBS；

[0011] 所述的洗涤液为含 0.1% (v/v)Tween-20 的 PBS；

[0012] 所述的酶标记抗体为碱性磷酸酶 (AP) 标记的羊抗小鼠 IgG 抗体；

[0013] 所述的血细胞抗凝剂为含 0.02M EDTA 的 PBS。

[0014] 本发明的 ELISA 检测试剂盒的制备方法包括下列步骤：

[0015] 1. 制备血细胞标准样品：取健康的栉孔扇贝，定量抽取血淋巴，离心后，所得血细胞沉淀用等量的血细胞抗凝剂重悬，经超声波破碎，作为本试剂盒的血细胞标准样品；

[0016] 2. 制备抗栉孔扇贝血细胞的单抗：以血细胞标准样品为抗原免疫小鼠，细胞融合，经间接免疫荧光法筛选，克隆，得到抗栉孔扇贝血细胞的单克隆杂交瘤细胞，其培养上清液即含单抗；选取 1 株免疫荧光反应结果为强阳性，且能与栉孔扇贝各种类型血细胞特异性结合的单抗作为本试剂盒的栉孔扇贝血细胞单抗；

[0017] 3. 确定抗原与抗体的最佳使用比例：将上述血细胞标准样品和血细胞单抗分别用磷酸盐缓冲液进行梯度稀释，通过 ELISA 棋盘滴定法获取抗原抗体的适宜反应比例，进而确定抗原与抗体的最佳使用比例；

[0018] 4. 建立检测结果评估标准：分别通过高温和病原的刺激，应用血细胞单抗的 ELISA 法检测各刺激条件下血细胞的数量变化；根据统计学分析方法，以常温和高温刺激实验组的结果制定扇贝健康状态与受环境胁迫的临界范围；以对照和病原感染实验组的结果制定扇贝受环境胁迫与病原感染的临界范围；在二者之间即为受环境胁迫的范围；从而建立评估标准。

[0019] 本发明的优点是将血细胞作为抗原包被于酶标板，应用血细胞单抗通过高效率的酶标记抗体显色的方法将待检样品的血细胞含量直观表达出来，特异性强，精确度高，灵敏度高，可用于少量样品、多个样品的平行检测，重复性和稳定性好。检测结果能够评估扇贝受病原感染或环境胁迫等的可能，起到提前预警的作用，方便养殖户及早采取防控措施。

附图说明

[0020] 图 1 为本发明的栉孔扇贝血细胞悬液与单抗 1F7 反应间接免疫荧光检测的结果。

[0021] 图 2 为本发明的水温为 15℃和 25℃时栉孔扇贝血细胞样品的 ELISA 检测结果。

[0022] 图 3 为本发明的水温为 25℃，受病原感染时栉孔扇贝血细胞样品 ELISA 检测结果。

[0023] 图 4 为本发明的 2009 年 3 ～ 12 月青岛地区养殖的栉孔扇贝血细胞样品的 ELISA 检测结果。

[0024] 图 1 所示：A 为暗视野下荧光检测的结果；B 为明视野下原位微分干涉检测的结果；其中 G 为颗粒血细胞；H 为透明血细胞。

具体实施方式

[0025] 下面结合附图并通过具体实施例对本发明作进一步说明。

[0026] 实施例 1：栉孔扇贝血细胞 ELISA 检测试剂盒的制备

[0027] 1. 制备血细胞标准样品

[0028] 取 30 ～ 40 只活力健康、体质正常（适宜的生活环境：水温 15℃，盐度 31ppt，饵料充足，无病原微生物等）的栉孔扇贝，从闭壳肌抽取血淋巴 50ml，按体积比为 1 ： 1 与预冷的血细胞抗凝剂（含 0.02M EDTA 的 PBS：0.02M EDTA，0.14M NaCl，3mM KCl，8mM Na_2HPO_4，1.5mM KH_2PO_4，pH 7.4）混匀，混合液经 3000r/min，4℃离心 10min，所得血细胞沉淀，用 50ml 抗凝剂重悬，再经超声波破碎，即为血细胞标准样品，分装，-80℃冻存。

[0029] 2. 制备抗栉孔扇贝血细胞的单抗

[0030] (1) 动物免疫：取 100μl 血细胞标准样品作为抗原与等体积的弗氏完全佐剂混匀，完全乳化后，从 BALB/c 小鼠的腹腔多点注射乳化液共 100μl；首次免疫两周后进行加强免疫（佐剂改用弗氏不完全佐剂，免疫剂量和部位同首次免疫）；一周后，进行二次加强免疫（无佐剂的血细胞标准样品 100μl，尾静脉注射）；一周后，进行扩增免疫（免疫物质，剂量和部位同二次加强免疫）；三天后，融合；

[0031] (2) 细胞融合和血细胞阳性杂交瘤的筛选：将免疫小鼠的脾细胞与骨髓瘤细胞按常规方法［朱立平，陈血清等．免疫学常用试验方法［M］．北京：人民军医出版社，2000，23-74］进行细胞融合、培养、及间接免疫荧光法（以未经固定的扇贝血细胞悬液为抗原）筛选，得到抗扇贝血细胞的阳性杂交瘤细胞；再用有限稀释法对阳性杂交瘤细胞进行克隆，得到抗扇贝血细胞的阳性单克隆杂交瘤细胞。收集阳性单克隆杂交瘤细胞的培养上清液（即含单抗），通过间接免疫荧光法进一步筛选出 1 株免疫荧光结果为强阳性的单抗 1F7，其能与栉孔扇贝透明血细胞和颗粒血细胞均特异性结合（图 1）。单抗 1F7 经免疫组化检测后，结果表明其与栉孔扇贝其它组织细胞无交叉反应；

[0032] (3) 血细胞单抗的收集与纯化：收集杂交瘤细胞 1F7 的培养上清液 250ml，过 AmershamPhamacia Biotech 公司的亲和层析柱 (HiTrap Protein G Sepharose Column)，浓缩、透析、冻干，PBS 重悬，分装，-80℃冻存。

[0033] 3. 确定抗原与抗体的最佳使用比例

[0034] 血细胞标准样品用 PBS 按 2^0，2^{-1}，2^{-2}，2^{-3}，2^{-4}，2^{-5}，2^{-6} 和 2^{-7} 的梯度稀释包被于酶标板孔内，每孔 100μl，每个梯度的样品加样 6 孔，4℃过夜；加封闭液（用 PBS 配制的 3.0％牛血清白蛋白溶液）封闭 1h；将血细胞单抗（一抗）用 PBS 按 2^0，2^{-1}，2^{-2}，2^{-3}，2^{-4} 和 2^{-5} 的梯度稀释，按棋盘滴定法加入到相应的抗原孔中，每孔 100μl，37℃孵育 1.5h；再加入酶标记抗体 (AP 二抗）100μl，37℃孵育 1h；最后加 pNPP 底物显色液 100μl，37℃孵育 30min，用酶标仪于 405nm 处读数。结果表明（表 1）：血细胞标准样品浓度与血细胞单抗浓度组合为 2^02^0，2^02^{-1}，$2^{-1}2^0$，$2^{-1}2^{-2}$，$2^{-2}2^0$，$2^{-2}2^{-1}$ 时的 OD_{405nm} 值普遍高于其他各种组合，为抗原抗体的适宜反应比例。考虑实际用量、节约成本等问题，选择 $2^{-1}2^{-2}$（即抗原稀释 2 倍，单抗稀释 4 倍）作为试剂盒抗原抗体的最佳使用比例。

[0035] 表 1：各个抗原、抗体梯度组合的 OD_{405nm} 值，粗体为 OD_{405nm} 值≥ 0.5600。

[0036]

	2^0 抗原	2^{-1} 抗原	2^{-2} 抗原	2^{-3} 抗原	2^{-4} 抗原	2^{-5} 抗原	2^{-6} 抗原	2^{-7} 抗原
2^0 抗体	**0.5685**	**0.5754**	**0.5760**	0.5415	0.5226	0.4082	0.3606	0.2411
2^{-1} 抗体	**0.5600**	0.5289	**0.5723**	0.5554	0.5293	0.4280	0.3189	0.2280
2^{-2} 抗体	0.5445	**0.5734**	0.5048	0.5026	0.4709	0.3712	0.3028	0.1877
2^{-3} 抗体	0.5226	0.4997	0.5316	0.5007	0.4835	0.3943	0.2960	0.1933
2^{-4} 抗体	0.5014	0.5323	0.5333	0.5224	0.4976	0.3967	0.2825	0.2017
2^{-5} 抗体	0.4754	0.5150	0.5455	0.4538	0.4658	0.3715	0.2687	0.1696

[0037] 4. 建立检测结果评估标准

[0038] (1) 高温和病原刺激实验的设计：取 100 只扇贝分别在水温 15℃（常温）和 25℃（高温）的条件下（每组 50 只），养殖 7 天；取 100 只扇贝分别注射扇贝急性病毒性坏死病毒 (AVNV) 粗提液，每只 100μl，另取 100 只扇贝注射 2%的灭菌生理盐水作为对照组，在水温为 25℃的条件下各养殖 15 天。每天观察各实验组扇贝的健康状况，每组采样 5 ～ 6 只扇贝，定量抽取血淋巴，离心后，所得血细胞沉淀用等量抗凝剂重悬，经超声波破碎，分装，-80℃冻存，待用；

[0039] (2)ELISA 检测：分别将经温度和病原刺激的各天样品和血细胞标准样品以 2-1 稀释作为抗原，包被于酶标板孔中，每孔 100μl，4℃过夜；加封闭液于 37℃孵育 1h；加 2-2 稀释的血细胞单抗，每孔 100μl，37℃孵育 1.5h；加酶标记抗体 (AP 二抗)，每孔 100μl，37℃孵育 1h；最后加 pNPP 底物显色液，每孔 100μl，37℃孵育 30min，于 405nm 处读数。待血细胞标准样品的 OD_{405nm} 值达到 0.6 时，即可停止读数，读取各组样品的 OD_{405nm} 值；

[0040] (3)ELISA 结果：水温为 15℃的实验组 7 天内的 OD_{405nm} 值位于 0.591 ～ 0.625，各值之间无显著差异；水温为 25℃的实验组 7 天内的 OD_{405nm} 值位于 0.489 ～ 0.586，各值与 15℃组的最低值 (0.591) 相比，除第 7 天的值 (0.586) 无显著差异外，第 1 ～ 6 天的各值均显著低于 0.591（图 2）。在 25℃水温条件下，对照组（注射生理盐水）15 天内的 OD_{405nm} 值位于 0.486 ～ 0.621；病原感染组在第 2 ～ 9 天内扇贝急剧死亡，最终存活率为 44%；15 天内的 OD_{405nm} 值位于 0.261 ～ 0.571，其中第 3 ～ 9 天的各值 (0.261 ～ 0.446) 特别低，显著低于对照组的最低值 (0.486)（图 3）；

[0041] (4) 分析检测结果，建立评估标准：结合图 2 的结果，在 25℃实验组的第 1 ～ 6 天各值中选取最大值 (0.549)，0.549 与 0.591 之间即为环境胁迫与健康状态的临界范围；结合图 3 的结果，在病原感染组的第 3 ～ 9 天各值中选取最大值 (0.446)，0.446 与 0.486 之间即为环境胁迫与病原感染的临界范围。经差异显著性以及统计学结果分析，本试剂盒的环境胁迫与健康状态的临界范围为 0.57±0.025，高于本范围时扇贝为健康状态；环境胁迫与病原感染的临界范围为 0.47±0.019，低于本范围时扇贝为病原感染状态。位于二者之间的范围时扇贝为环境胁迫状态。

[0042] 实施例 2：栉孔扇贝血细胞 ELISA 检测试剂盒的具体使用方法

[0043] 1. 待检样品前处理：用灭菌注射器从闭壳肌中定量抽取血淋巴，立即与预冷血细胞抗凝剂按体积比为 1 ： 1 混匀。混合液于 3000r/min，4℃离心 10min，所得血细胞沉淀用与血淋巴等量的抗凝剂重悬，经超声波破碎后，即为待检样品；

[0044] 2. 包被抗原：将上述待检样品和血细胞标准样品用 PBS 以 2^{-1} 稀释，加到酶标板孔中，每孔 100μl，4℃包被过夜；

[0045] 3. 封闭：弃去孔内液体，每孔中加 200μl 洗涤液 (PBST)，轻轻摇晃 5min，倒掉洗涤液，反复 3 次。洗完后，在每孔中加入 200μl 封闭液，37℃孵育 1h；

[0046] 4. 一抗孵育：弃去孔内液体，每孔中加 200μl 洗涤液，5min/ 次，洗 3 次。洗完后，每孔中加入 100μl 用 PBS 以 2^{-2} 稀释的血细胞单抗，37℃孵育 1.5h；

[0047] 5. 二抗孵育：弃去孔内液体，每孔中加 200μl 洗涤液，5min/ 次，洗 3 次。洗完后，每孔中加入 100μl 酶标记抗体，37℃孵育 1h；

[0048] 6. 显色读数：弃去孔内液体，每孔中加 200μl 洗涤液，5min/ 次，洗 3 次。洗完后，每孔中加入 100μl pNPP 底物显色液，于 37℃孵育 30min 后用酶标仪于 405nm 波长下读数。待血细胞标准样品的 OD_{405nm} 值达到 0.6 时，即可停止读数，读取待检样品的 OD_{405nm} 值；

[0049] 7. 检测结果的判定：按试剂盒所附的评估标准，当待检样品的 OD_{405nm} 值低于 0.47±0.019 时判定为受病原感染状态；位于 0.47±0.019 与 0.57±0.025 之间时判定为受环境胁迫状态；高于 0.57±0.025 时判定为健康状态。

[0050] 实施例 3. 应用本试剂盒检测青岛地区养殖的栉孔扇贝其血细胞的季节性变化

[0051] 1. 样品采集和处理：选取山东省青岛市沙子口地区，2009 年 3 至 12 月份间每月中旬随机采集扇贝 100 只，每次取样后从所采集的扇贝中又随机取 20 只扇贝按实施例 2 中待检样品前处理的方法处理样品；

[0052] 2. 样品检测：按实施例 2 中所提供的本试剂盒的具体使用方法对每月份所采集的血细胞样品进行 ELISA 检测；

[0053] 3. 结果分析（图 4）：2009 年 3 至 12 月份沙子口养殖地区的栉孔扇贝其血细胞 ELISA 检测的 OD_{405nm} 值分别为 0.623，0.648，0.598，0.685，0.634，0.402，0.385，0.476，0.487 和 0.542。其中 3 ～ 7 月份的各值均高于 0.57±0.025（环境胁迫与健康状态的临界范围），该时期水温适宜，饵料充足，扇贝生长快速，性腺饱满，尤其是 6 月份，扇贝处于健康状态；8，9 月份的各值均低于 0.47±0.019（环境胁迫与病原感染的临界范围），该时期扇贝繁殖期结束，体质较为虚弱，加之水温升高，病原增殖加快，极易处于受病原感染的状态；10 ～ 12 月份的各值均位于 0.47±0.019 与 0.57±0.025 之间，该时期扇贝处于一个病原感染后的恢复期，加之饵料食物的日渐缺乏，基本处于环境胁迫状态。本发明通过对栉孔扇贝血细胞季节性变化的检测，其检测结果与实际生产的扇贝状况基本吻合，适用于生产实践中扇贝健康状况的评估。

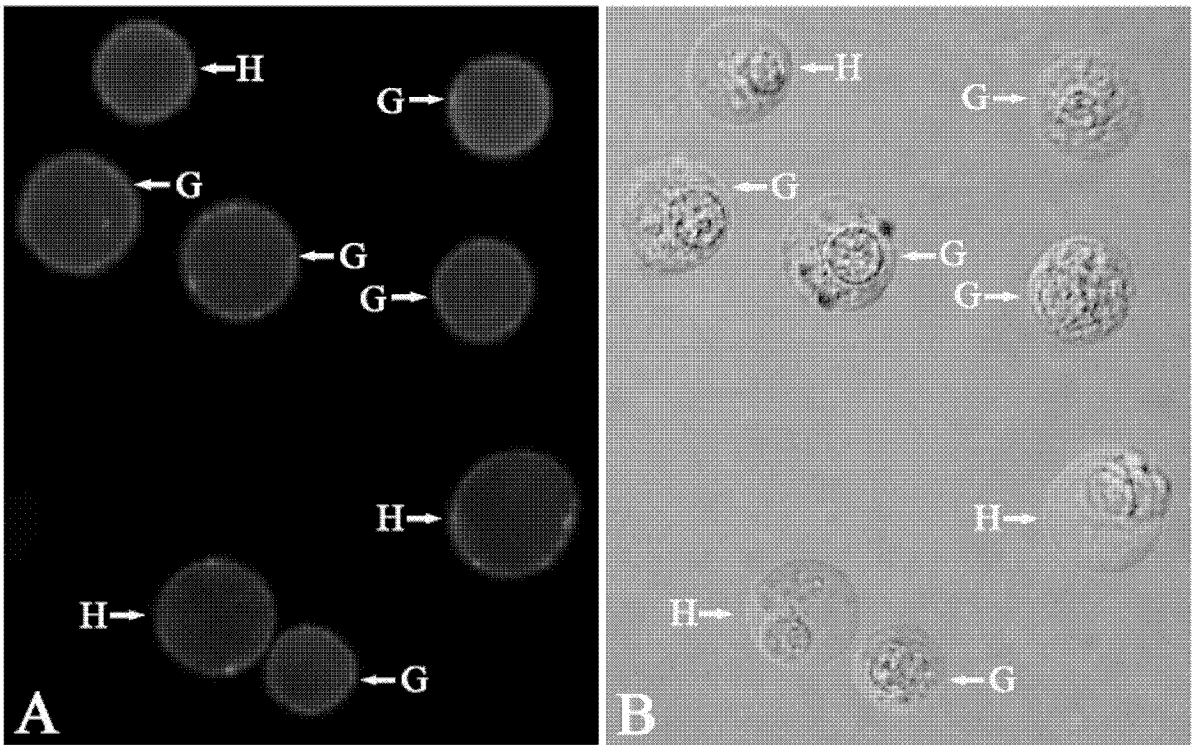
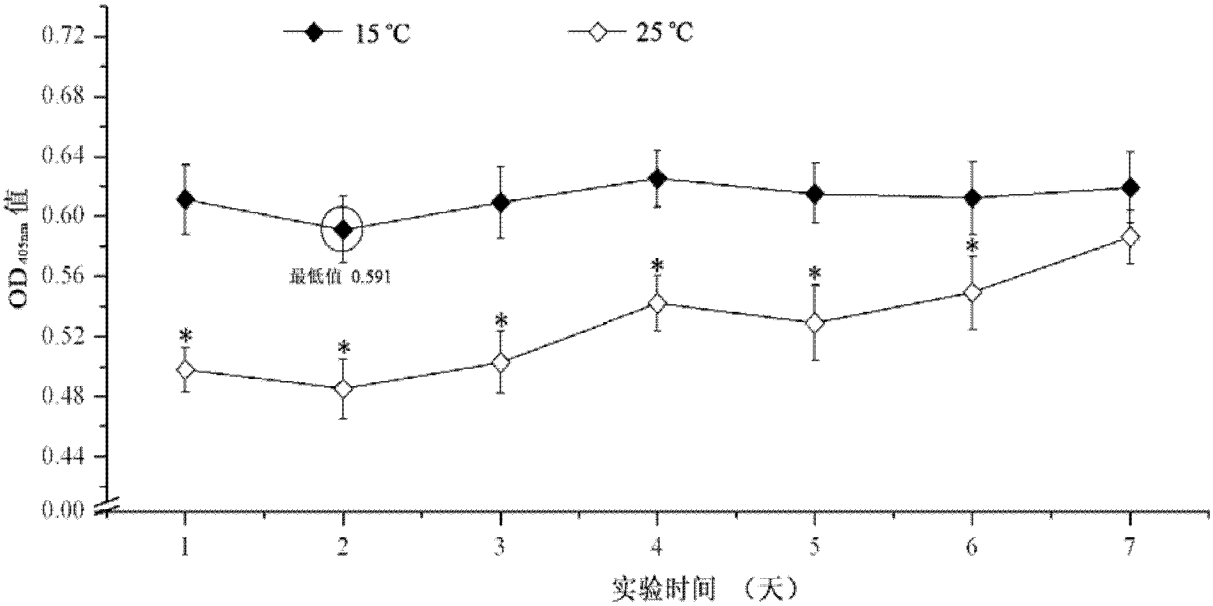
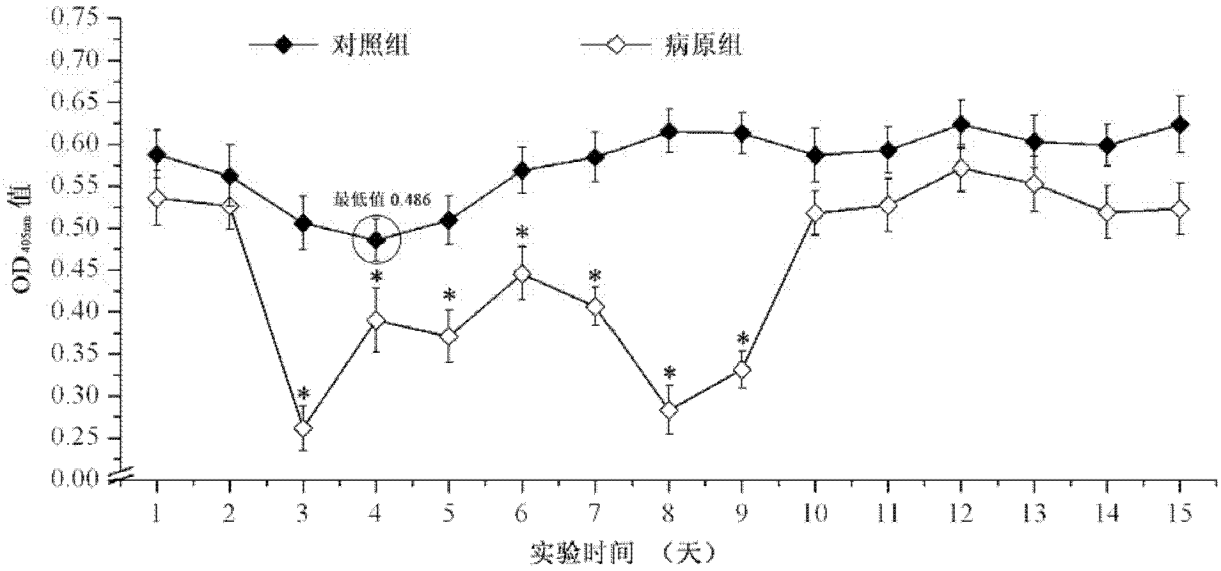


图 1



“*” 表示25℃中各值与15℃中最低值（0.591）相比差异显著。

图 2



“*”表示病原感染组第3~9天的各值与对照组最低值（0.486）相比差异显著。

图 3

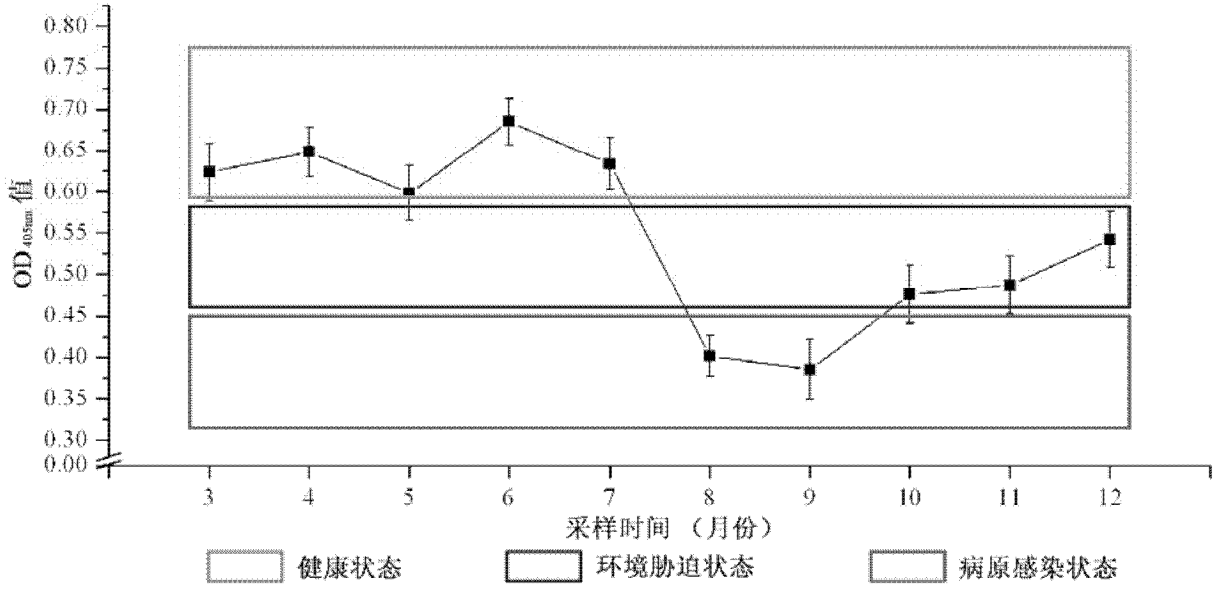


图 4

专利名称(译)	栉孔扇贝血细胞的酶联免疫检测试剂盒及其制备方法		
公开(公告)号	CN101846685A	公开(公告)日	2010-09-29
申请号	CN201010191097.0	申请日	2010-06-03
[标]申请(专利权)人(译)	中国海洋大学		
申请(专利权)人(译)	中国海洋大学		
当前申请(专利权)人(译)	中国海洋大学		
[标]发明人	战文斌 林听听 邢婧 绳秀珍		
发明人	战文斌 林听听 邢婧 绳秀珍		
IPC分类号	G01N33/577 G01N33/531		
代理人(译)	王铎		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种栉孔扇贝血细胞的酶联免疫检测试剂盒及其制备方法，该试剂盒包括酶标板、封闭液、洗涤液、酶标记抗体、pNPP底物显色液、磷酸盐缓冲液、血细胞抗凝剂、栉孔扇贝血细胞单克隆抗体、血细胞标准样品；所述试剂盒的制备方法包括以下步骤：栉孔扇贝血细胞标准样品的制备，血细胞单抗的制备，抗原与抗体最佳使用比例的优化，以及检测结果评估标准的建立。本发明的检测结果可通过所建立的评估标准的判定，评估待检扇贝受病原感染或环境胁迫等的可能，从而为监测扇贝健康状况提供依据。

	2^{0}抗原	2^{-1}抗原	2^{-2}抗原	2^{-3}抗原	2^{-4}抗原	2^{-5}抗原	2^{-6}抗原	2^{-7}抗原
2^{0}抗体	**0.5685**	**0.5754**	**0.5760**	0.5415	0.5226	0.4082	0.3606	0.2411
2^{-1}抗体	**0.5600**	0.5289	**0.5723**	0.5554	0.5293	0.4280	0.3189	0.2280
2^{-2}抗体	0.5445	**0.5734**	0.5048	0.5026	0.4709	0.3712	0.3028	0.1877
2^{-3}抗体	0.5226	0.4997	0.5316	0.5007	0.4835	0.3943	0.2960	0.1933
2^{-4}抗体	0.5014	0.5323	0.5333	0.5224	0.4976	0.3967	0.2825	0.2017
2^{-5}抗体	0.4754	0.5150	0.5455	0.4538	0.4658	0.3715	0.2687	0.1696