



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 105938146 A

(43)申请公布日 2016.09.14

(21)申请号 201610255505.1

(22)申请日 2016.04.22

(71)申请人 苏州新波生物技术有限公司  
地址 215400 江苏省苏州市太仓市经济开发  
区太平北路115号

(72)发明人 李楠 黄加喜 于春红

(74)专利代理机构 上海申新律师事务所 31272  
代理人 竺路玲

(51)Int.Cl.

G01N 33/68(2006.01)

G01N 33/569(2006.01)

G01N 33/543(2006.01)

G01N 33/534(2006.01)

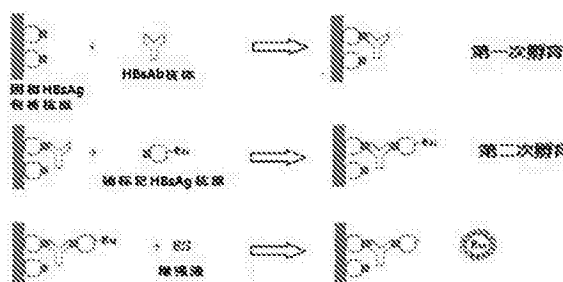
权利要求书1页 说明书6页 附图4页

(54)发明名称

一种HBV表面抗体时间分辨免疫荧光检测试剂盒及其制备方法

(57)摘要

本发明的一种HBV表面抗体时间分辨免疫荧光检测试剂盒,本试剂盒采用的是时间分辨免疫荧光分析法,可有效地排除非特异性荧光的干扰,极大的提高了灵敏度;另外,本发明的包被反应板的为完全不透光的板架和相应配合的酶标板组成,每个微孔之间完全无影响,使得阴性样本与Blank的荧光本底大大降低,信噪比显著提高,酶标板包被采用特殊辐照,使得包被效果显著提高,进一步地提高了试剂盒的灵敏度;同时本试剂盒包被用的HBV表面抗原采用特定方法而获得,亦提高了表面抗原的纯度及得率,使得包被和检测效果进一步提高,使得本发明具有和进口试剂盒相似甚至更高的检测灵敏度,但成本远低于进口试剂盒,适合规模生产和应用。



1. 一种HBV表面抗体时间分辨免疫荧光检测试剂盒,包括包被反应板,其特征在于,还包括乙型肝炎表面抗体校准品、镧系元素离子标记的HBV表面抗原,所述包被反应板包括相互配合的板架和酶标板,所述板架设有多个与酶标板配合的通孔,所述酶标板吸附有HBV表面抗原。

2. 根据权利要求1所述的试剂盒,其特征在于,所述的板架为完全不透光的材料制作,所述酶标板为经钴60辐照30天后,HBV表面抗原使用缓冲液稀释至1-5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 后加入微孔反应板内,以100 $\mu\text{L}$ /孔包被过夜,然后经洗涤、封闭、干燥而获得,其中HBV表面抗原为用盐析离心法与疏水层析法相结合而获得。

3. 根据权利要求1所述的试剂盒,其特征在于,所述HBV表面抗原的具体制备方法为将HBV重组抗原溶液按体积加10%硫酸铵沉淀,经0.65 $\mu\text{m}$ 滤芯除去细胞碎片后,经层析柱分离获得洗脱峰,洗脱峰经溴化钾等密度梯度30000r/min超速离心24h,用高比重顶液顶出,分部收集,将收集的液体经凝胶过滤层析,得到高纯度的HBV表面抗原。

4. 根据权利要求1所述的试剂盒,其特征在于,还包括缓冲液、洗涤液、荧光增强液。

5. 根据权利要求1-4任意一项所述的试剂盒,其特征在于,所述镧系元素离子为 $\text{Eu}^{3+}$ 、 $\text{Tb}^{3+}$ 、 $\text{Sm}^{3+}$ 、 $\text{Dy}^{3+}$ 中的至少一种。

6. 根据权利要求5所述的试剂盒,其特征在于,所述镧系元素离子为 $\text{Eu}^{3+}$ 。

7. 根据权利要求4所述的试剂盒,其特征在于,所述荧光增强液含有 $\beta$ -二酮类化合物或芳香胺类化合物。

8. 一种制备如权利要求1所述的试剂盒的方法,其特征在于,包括以下步骤:

步骤1制备预处理包被反应板:

使用黑色聚苯乙烯制备板架,预留与酶标板相互配合的通孔;酶标板经过钴60辐照30天后,与板架配合组装,获得预处理包被反应板,备用;

步骤2包被HBV表面抗原反应板的获得:

用盐析离心法与疏水层析法相结合获得HBV表面抗原,将获得的表面抗原使用缓冲液稀释至1-5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 后加入步骤1获得的预处理包被反应板的酶标板微孔内,以100 $\mu\text{L}$ /孔包被过夜,然后经洗涤、封闭、干燥,将微孔板条真空密封于铝箔袋内,冷藏备用;

步骤3镧系元素离子标记的HBV表面抗原的获得:

将另一种HBV表面抗原经缓冲液透析后,与镧系元素离子以10:1的比例混合,静置24 $\pm$ 2小时后经Sephacryl S-50分离柱分离,获得镧系元素离子标记的HBV表面抗原;

步骤4乙型肝炎表面抗体校准品的获得:采用WHO Anti-HBs国际标准品配制的线性系列来标定阳性血浆制备的抗-HBs企业标准品,使用经标化的抗-HBs企业标准品标定抗-HBs多抗,然后稀释成0,5,10,50,250,1000mIU/ml的乙型肝炎表面抗体校准品;

步骤5荧光增强液的配制:以无水乙醇溶解 $\beta$ -NTA、TOPO,再加入邻苯二甲酸氢钾和三蒸水,40 $^{\circ}\text{C}$ 溶解后,加入乙酸、Ttiton X-100,调PH至3.2,定容后保存备用;

步骤6组装各个组分,获得HBV表面抗体时间分辨免疫荧光检测试剂盒。

9. 根据权利要求8所述的方法,其特征在于,所述镧系元素离子为 $\text{Eu}^{3+}$ 。

## 一种HBV表面抗体时间分辨免疫荧光检测试剂盒及其制备方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及病毒蛋白免疫分析技术领域,尤其涉及一种HBV表面抗体时间分辨免疫荧光检测试剂盒及其制备方法。

### 背景技术

[0002] 乙型肝炎病毒(Hepatitis B Virus,HBV)是一种嗜肝病毒,是肝病毒家族的DNA逆转录病毒,于1965年被丹娜发现,被称之为丹式颗粒。主要存在于肝细胞并损害肝细胞,该病原体可通过血液,母婴和性传播感染机体,引起肝细胞炎症、坏死、纤维化,损害肝脏,引发乙型病毒性肝炎疾病,简称乙肝。乙型病毒性肝炎分急性和慢性两种。急性乙型肝炎在成年人中90%可自愈,而慢性乙型肝炎表现不一,分为慢性乙肝携带者、慢性活动性乙型肝炎、乙肝肝硬化等。HBV在全世界范围内均有流行,据WHO统计,全球约有20亿人感染过HBV病毒,其中3亿以上的人群为慢性HBV携带者,迄今为止,每年仍有近100万人死于HBV感染引起的肝衰竭和肝癌。在我国,约有1亿的HBV携带者,目前乙肝病毒携带率为7.18%,其中约三分之一有反复肝损害,表现为活动性的乙型肝炎或者肝硬化。乙肝流行范围广,治疗困难,对人体造成的危害大。首先,乙肝的传染性极强。乙肝病毒由质地坚硬的外壳包被,保护病毒不受外界恶劣环境侵害,使其生命力极其顽强,它可通过患者排出的各种体液传染给健康的人群。其次,乙肝的治愈非常困难,虽然现在市面上针对乙肝治疗的药品很多,但真正治愈的特效药品很少。此外,乙肝容易发生恶变,据统计,HBV携带者如果不加以治疗,31.6%~60.1%将会转化成慢性肝炎,而20.8%~56.3%的慢性肝炎会恶化变成肝硬化,肝硬化患者如不及时治疗就会有16%~51.1%的患者转化为肝癌,危及生命。乙肝还具有突发性,乙肝病毒在人体内存在,具有一定的潜伏期,不易被发现,当外界条件成熟,就可突然间发作,并且不可抑制。对HBV的防治成为全世界亟待解决的问题。在尚未找到较好的治疗方法之前,对乙肝病毒的预防就显得尤为重要。乙肝疫苗的推广应用,使得乙肝病毒的感染率逐年下降,对乙型肝炎的预防和控制起重要作用。

[0003] 乙型肝炎表面抗体是对乙肝病毒免疫的保护性抗体。它的阳性表明既往感染过乙肝病毒,但已经排除病毒,或者接种过乙肝疫苗,产生了保护性抗体。血清中乙型肝炎表面抗体滴度越高,保护力越强。乙型肝炎表面抗体是由乙型肝炎表面抗原诱导产生,为保护性抗体。在HBV感染恢复期或注射乙肝疫苗后出现,它的出现标志对HBV感染产生特异性免疫。乙型肝炎表面抗体是指动物或人体抗乙型肝炎表面抗原产生的IgG、IgM等类型抗体的总称,广泛应用于乙型肝炎病毒鉴定、乙型肝炎疫苗以及乙型肝炎表面抗原的定性和定量检测中。

[0004] 近年来临床上应用较多的乙型肝炎病毒表面抗体免疫检测方法主要有放射免疫测定(Radioimmunoassay,R1A)、酶联免疫分析法(Enzyme Immunoassay,E1A)、化学发光免疫分析法(Chemiluminescent Immunoassay,CL1A)和时间分辨免疫荧光分析法(Time-resolved Immunofluorometric Assay,TRIFMA)。

[0005] RIA临床应用较早,敏感性高,特异性好,结果可用仪器定量检测。

[0006] EIA推广应用稍晚于RIA,其优点在于其无污染、操作简单、试剂有效期长、特异性好以及结果可用仪器测定等特点。

[0007] CLIA的优点在于其灵敏度高、线性范围广、便于实现自动化、产品有效期长、对环境无污染、对人体无毒无害等优点。

[0008] RIA存在核辐射危害、有效期短、操作复杂、测定时间长和难于实现自动化等缺点。EIA敏感性相对较低,测定范围相对较窄等缺点,主要用于定性检测,限制了其在微量免疫定量分析中的应用。由于大多数板式CLIA试剂盒仍采用EIA相同的酶促反应,以辣根酶或碱性磷酸酶交联抗体,使用鲁米诺或金刚烷等作为底物,检测的是动态发光,导致检测信号值衰减较快、高浓度和低浓度信号衰减速度不一致,限制了其在免疫定量分析中的低端检测灵敏度、稳定性和重复性。TRIFMA灵敏度相对较高,特异性好,但是国内应用TRIFMA法的试剂盒与和进口试剂盒相比,普遍存在灵敏度不够的问题。

## 发明内容

[0009] 本发明为解决现有技术中的上述问题提出的一种兼具操作简单、灵敏度高、特异性好、无污染特点,又能够以较低成本具备和进口发光试剂相似的检测灵敏度的HBV表面抗体时间分辨免疫荧光检测试剂盒及其制备方法。

[0010] 为了实现上述技术目的,本发明所采取的技术措施为:

[0011] 一种HBV表面抗体时间分辨免疫荧光检测试剂盒,包括包被反应板,还包括乙型肝炎表面抗体校准品、镧系元素离子标记的HBV表面抗原,所述包被反应板包括相互配合的板架和酶标板,所述板架设有多个与酶标板配合的通孔,所述酶标板吸附有HBV表面抗原。

[0012] 为了进一步优化上述技术方案,本发明所采取的技术措施还包括:

[0013] 优选地,上述的板架为完全不透光的材料制作,所述酶标板为经钴60辐照30天后,HBV表面抗原使用缓冲液稀释至1-5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 后加入微孔反应板内,以100 $\mu\text{L}$ /孔包被过夜,然后经洗涤、封闭、干燥而获得,其中HBV表面抗原为用盐析离心法与疏水层析法相结合而获得;具体地,所述HBV表面抗原的具体制备方法为将重组抗原溶液按体积加10%硫酸铵沉淀,经0.65 $\mu\text{m}$ 滤芯除去细胞碎片后,经层析柱分离获得洗脱峰,洗脱峰经溴化钾等密度梯度超速离心(1.04 $\text{g}/\text{ml}$ -1.34 $\text{g}/\text{ml}$ ),30000 $\text{r}/\text{min}$ 离心24h,用高比重顶液顶出,分部收集,将收集的液体经凝胶过滤层析,得到高纯度的HBV表面抗原。所述酶标板是经过钴60射线辐照后,微孔表面发生了氧化,产生了某些含氧的活性基团改善了对包被生物分子的亲水性与化学反应性能,从而在不改变检测的特异性但可明显提高检测的敏感性和均一性。

[0014] 进一步地,上述的板架的高度和酶标板完全匹配,使得板架和酶标板组合后,不同微孔之间完全没有光线的相互干扰,板架的高度优选为1-1.5 $\text{cm}$ ,板架上的通孔的边缘的相互距离为0.6-1.2 $\text{mm}$ 。

[0015] 进一步地,本发明的试剂盒还包括缓冲液、洗涤液、荧光增强液。

[0016] 优选地,所述镧系元素离子为 $\text{Eu}^{3+}$ 、 $\text{Tb}^{3+}$ 、 $\text{Sm}^{3+}$ 、 $\text{Dy}^{3+}$ 中的至少一种,更优选为 $\text{Eu}^{3+}$ 。

[0017] 进一步地,本发明的荧光增强液含有 $\beta$ -二酮类化合物或芳香胺类化合物。

[0018] 另一方面,本发明还提供制备上述试剂盒的方法,包括以下步骤:

[0019] 步骤1制备预处理包被反应板:

[0020] 使用黑色聚苯乙烯制备板架,预留与酶标板相互配合的通孔;酶标板经过钴60辐照30天后,与板架配合组装,获得预处理包被反应板,备用;

[0021] 步骤2包被HBV表面抗原反应板的获得:

[0022] 用盐析离心法与疏水层析法相结合获得HBV表面抗原,使用盐析离心法与疏水层析法相结合制备抗原具有无可比拟的优势。盐析离心法收率高,但由于大量使用长时间的超速离心,纯化周期较长,由于超速离心机转头寿命有限,费用较高;疏水层析法纯度高,但收率较低,本发明在制备HBV表面抗原时,结合2种方法的优点,大大提高了表面抗原的纯度及得率。将获得的表面抗原使用缓冲液稀释至1-5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 后加入步骤1获得的预处理包被反应板的酶标板微孔内,以100 $\mu\text{L}/\text{孔}$ 包被过夜,然后经洗涤、封闭、干燥,将微孔板条真空密封于铝箔袋内,冷藏备用;

[0023] 步骤3镧系元素离子标记的HBV表面抗原的获得:

[0024] 将另一种具有和包被抗原所不同的抗原表位的HBV表面抗原经缓冲液透析后,与镧系元素离子以10:1的比例混合,静置 $24\pm 2$ 小时后经Sephacryl S-50分离柱分离,获得镧系元素离子标记的HBV表面抗原;

[0025] 步骤4乙型肝炎表面抗体校准品的获得:采用WHO Anti-HBs国际标准品配制的线性系列来标定阳性血浆制备的抗-HBs企业标准品,使用经标化的抗-HBs企业标准品标定抗-HBs多抗,然后稀释成0,5,10,50,250,1000 $\text{mIU}/\text{mL}$ 的乙型肝炎表面抗体校准品;

[0026] 步骤5荧光增强液的配制:以无水乙醇溶解 $\beta$ -NTA、TOPO,再加入邻苯二甲酸氢钾和三蒸水,40 $^{\circ}\text{C}$ 溶解后,加入乙酸、Ttiton X-100,调PH至3.2,定容后保存备用;

[0027] 步骤6组装各个组分,获得HBV表面抗体时间分辨免疫荧光检测试剂盒。

[0028] 优选地,所述镧系元素离子为 $\text{Eu}^{3+}$ 。

[0029] 本发明采用上述技术方案,与现有技术相比,具有如下技术效果:

[0030] 本发明的试剂盒采用表面抗原包被反应孔,用铕标记表面抗原,加入校准品及待测样本后,样本中表面抗体与包被于微孔表面抗原结合成抗-HBs-HBsAg复合物,洗涤后,再加入铕标记表面抗原(HBsAg-Eu),HBsAg-Eu与结合在板上的抗-HBs反应,在微孔中形成免疫复合物:HBsAg-抗-HBs-HBsAg-Eu。洗涤除去游离的铕标记表面抗原,加入增强液将复合物上的 $\text{Eu}^{3+}$ 解离到溶液中,并与增强液中的有效成份形成高荧光强度的螯合物,其荧光强度和样品中的抗-HBs浓度成正比。通过剂量-反应曲线得出样本抗-HBs的浓度值。

[0031] 本试剂盒采用的是时间分辨免疫荧光分析法,应用镧系元素作为示踪剂,标记抗原或抗体,根据镧系元素螯合物的发光特点,用时间分辨技术测量荧光。同时检出波长和时间两个参数进行信号分辨,可有效地排除非特异性荧光的干扰,极大的提高了灵敏度;另外,本发明的包被反应板的为完全不透光的板架和相应配合的酶标板组成,每个微孔之间完全无影响,使得阴性样本与Blank的荧光本底大大降低,信噪比显著提高,酶标板包被采用特殊辐照,使得包被效果显著提高,进而进一步地提高了试剂盒的灵敏度;同时本试剂盒包被用的HBV表面抗原采用特定的盐析离心法与疏水层析法相结合的方法而获得,亦大大提高了表面抗原的纯度及得率,使得包被和检测效果进一步提高,使得本发明具有和进口试剂盒相似甚至更高的检测灵敏度,但成本远低于进口试剂盒。

## 附图说明

- [0032] 图1为利用本发明的试剂盒进行HBV表面抗体检测的检测原理示意图；
- [0033] 图2为实施例三中本发明的试剂盒与雅培试剂线性范围内样本测值散点图直线回归分析；
- [0034] 图3为实施例三中本发明的试剂盒与雅培试剂全部样本测值线性回归分析。
- [0035] 图4为本发明的试剂盒中包被反应板的板架示意图；
- [0036] 图5为发明的试剂盒中包被反应板的整体示意图。

### 具体实施方式

[0037] 本发明提供了一种HBV表面抗体时间分辨免疫荧光检测试剂盒,还包括乙型肝炎表面抗体校准品、镧系元素离子标记的HBV表面抗原,所述包被反应板包括相互配合的板架和酶标板,所述板架设有多个与酶标板配合的通孔,所述酶标板吸附有HBV表面抗原。

[0038] 下面通过具体实施例对本发明进行详细和具体的介绍,以使更好的理解本发明,但是下述实施例并不限制本发明范围。

[0039] 实施例一 HBV表面抗体时间分辨免疫荧光检测试剂盒的制备

[0040] 使用Eu<sup>3+</sup>作为荧光标记物制备试剂盒,具体操作如下:

[0041] 步骤1制备预处理包被反应板:

[0042] 使用黑色聚苯乙烯制备板架,预留与酶标板相互配合的通孔(如附图4所示);酶标板经过钴60辐照30天后,与板架配合组装(如附图5所示),获得预处理包被反应板,备用;

[0043] 步骤2包被HBV表面抗原反应板的获得:

[0044] 用盐析离心法与疏水层析法相结合获得HBV表面抗原,将重组抗原溶液按体积加10%硫酸铵沉淀,经0.65um滤芯除去细胞碎片后,经层析柱分离获得洗脱峰,洗脱峰经溴化钾等密度梯度超速离心(1.04g/ml-1.34g/ml),30000r/min离心24h,用高比重顶液顶出,分部收集,将收集的液体经凝胶过滤层析,得到高纯度的HBV表面抗原;将获得的HBV表面抗原使用缓冲液稀释至1-5μg/mL后加入步骤1获得的预处理包被反应板的酶标板微孔内,以100μL/孔包被过夜,然后经洗涤、封闭、干燥,将微孔板条真空密封于铝箔袋内,冷藏备用;

[0045] 步骤3镧系元素离子标记的HBV表面抗原的获得:

[0046] 将HBV表面抗原经缓冲液透析后,与镧系元素离子以10:1的比例混合,静置24±2小时后经Sephacryl S-50分离柱分离,获得镧系元素离子标记的HBV表面抗原;

[0047] 步骤4乙型肝炎表面抗体校准品的获得:采用WHO Anti-HBs国际标准品配制的线性系列来标定阳性血浆制备的抗-HBs企业标准品,使用经标化的抗-HBs企业标准品标定抗-HBs多抗,然后稀释成0,5,10,50,250,1000mIU/ml的乙型肝炎表面抗体校准品;

[0048] 步骤5荧光增强液的配制:以无水乙醇溶解β-NTA、TOPO,再加入令苯二甲酸氢钾和三蒸水,40℃溶解后,加入乙酸、Triton X-100,调PH至3.2,定容后保存备用;

[0049] 上述组分制备完毕后,加入缓冲液、洗涤液等其他试剂盒组分,制备得到HBV表面抗体时间分辨免疫荧光检测试剂盒。

[0050] 实施例二 应用本发明的试剂盒检测乙肝表面抗体

[0051] 具体操作如下:

[0052] 1.加样:吸取100μL Anti-HBs校准品、待检样本,按顺序加入微孔中。

[0053] 2.第一次孵育:微孔反应条在室温条件下,用振荡仪缓慢振荡孵育40分钟。

[0054] 3. 第一次洗板:将微孔反应条放入洗板机吸干各孔并每孔注入工作洗涤液400 $\mu$ L,再吸干各孔,重复以上洗涤2次。

[0055] 4. 加铈标记物工作液:每孔加入100 $\mu$ L铈标记物工作液。

[0056] 5. 第二次孵育:微孔反应条在室温条件下,用振荡仪缓慢振荡孵育40分钟。

[0057] 6. 第二次洗板:将微孔反应条放入洗板机吸干各孔并每孔注入工作洗涤液400 $\mu$ L,再吸干各孔,重复以上洗涤6次。

[0058] 7. 加增强液:每孔加入增强液100 $\mu$ L。

[0059] 8. 检测:微孔反应条在室温下,用振荡仪缓慢振荡5分钟。

[0060] 9. 浓度计算:使用6个校准品作出剂量反应曲线,校准品复孔使用以保证准确性。样本中Anti-HBs浓度通过标定曲线得出。

[0061] 实施例三 本发明的试剂盒与进口发光试剂盒的比较

[0062] 利用本发明的HBV表面抗体时间分辨免疫荧光检测试剂盒(时间分辨免疫荧光分析法)与美国Abbott公司乙型肝炎病毒表面抗体定量测定试剂盒(化学发光微粒子免疫检测法)在三家医院同时检测了1106例临床样本,其中包括阳性样本618例,阴性样本488例(其中包括干扰样本107例)。干扰因素包括HCV/CMV/HBsAg/HAV/ANA/TP/RF/HIV/EB/TOXO/Rube11a以及孕妇样本(即HCG或THCG阳性)。

[0063] 线性范围内阳性样本测值线性回归分析:本次临床研究共检测618例阳性样本,其中614例检测结果在两方试剂盒检测范围内,对614例样本检测结果进行线性回归及定量相关性分析,以参比试剂的测定数值为横坐标,考核试剂的测定数值为纵坐标,使用SPSS 19.0统计分析软件对数据进行线性回归及相关性分析。614例两方试剂测值散点图直线回归分析见图2,线性回归方程为 $y=11.0937+0.9969x$ ,线性回归系数为0.9969,相关系数 $r=0.9464$ , $P<0.0001$ ,说明两组数据具有直线相关关系,且相关程度较高。

[0064] 全部样本测值线性回归分析:三家医院临床研究共检测有效样本1106例,对两方试剂检测结果进行线性回归及定量相关性分析,以参比试剂的测定数值为横坐标,考核试剂的测定数值为纵坐标,使用SPSS 19.0统计分析软件对数据进行线性回归及相关性分析。1106例考核试剂批次1与对比试剂两个批次测值散点图直线回归分析见图3,线性回归方程为 $y=18.6793+0.9753x$ ,线性回归系数为0.9753,相关系数 $r$ 为0.9542, $P<0.0001$ ,说明两组数据具有直线相关关系,且相关程度较高。

[0065] 定性结果的一致性分析

[0066] 将Abbott浓度计算值大于等于10mIU/mL的结果判定为参比试剂的反应性(阳性),小于10mIU/mL的结果判定为参比试剂的非反应性(阴性);将本发明试剂盒测定的浓度计算值大于等于10mIU/mL的结果判定为考核试剂的反应性(阳性),小于10mIU/mL的结果判定为考核试剂的非反应性(阴性)。对两个批次的考核试剂及对比试剂的检测结果两两之间进行四格表分析,结果如下表1所示:

[0067] 表1

		Abbott Anti-HBs (对比试剂)		
		阴性	阳性	总计
[0068]	本发明	485	5	490
	Anti-HBs	4	612	616
	(考核试剂)	总计	617	1106
X <sup>2</sup> (McNemar 检验)		P = 1.0000		
Kappa		0.984		

[0069] 被考核试剂盒,即本发明的HBV表面抗体时间分辨免疫荧光检测试剂盒,相比对比试剂,根据四格表计算本发明的试剂盒各项性能指标,结果如下(95%置信区间):

[0070]

	阴性符合率	阳性符合率	总符合率
百分比	99.2%	99.2%	99.2%
95%置信区间	98.4%~100.0%	98.5%~99.9%	98.3%~100.0%

[0071] 配对四格表卡方检验(McNemar检验)p值=1.0000>0.05,表明两种试剂盒的检测结果差异无显著的统计学意义。

[0072] 综上所述,本试剂盒采用时间分辨免疫荧光分析法,应用镧系元素作为示踪剂,标记抗原或抗体,根据镧系元素螯合物的发光特点,用时间分辨技术测量荧光。同时检出波长和时间两个参数进行信号分辨,可有效地排除非特异性荧光的干扰,极大的提高了灵敏度,具有特异性强、稳定性好、精密度高、可测定范围宽、试剂有效期长、操作简单、检测自动化程度高、数据自动生成处理能力强、无环境污染等优点;本发明的试剂盒具备和进口试剂盒相似的检测灵敏度,但成本远低于进口发光试剂,适合规模生产和应用。

[0073] 以上对本发明的具体实施例进行了详细描述,但其只是作为范例,本发明并不限制于以上描述的具体实施例。对于本领域技术人员而言,任何对本发明进行的等同修改和替代也都在本发明的范畴之中。因此,在不脱离本发明的精神和范围下所作的均等变换和修改,都应涵盖在本发明的范围内。

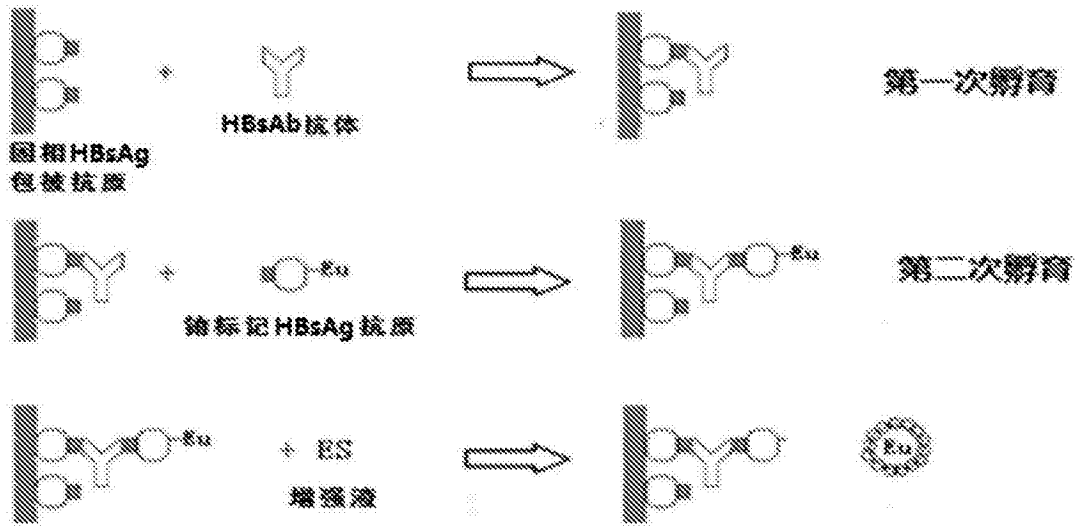


图1

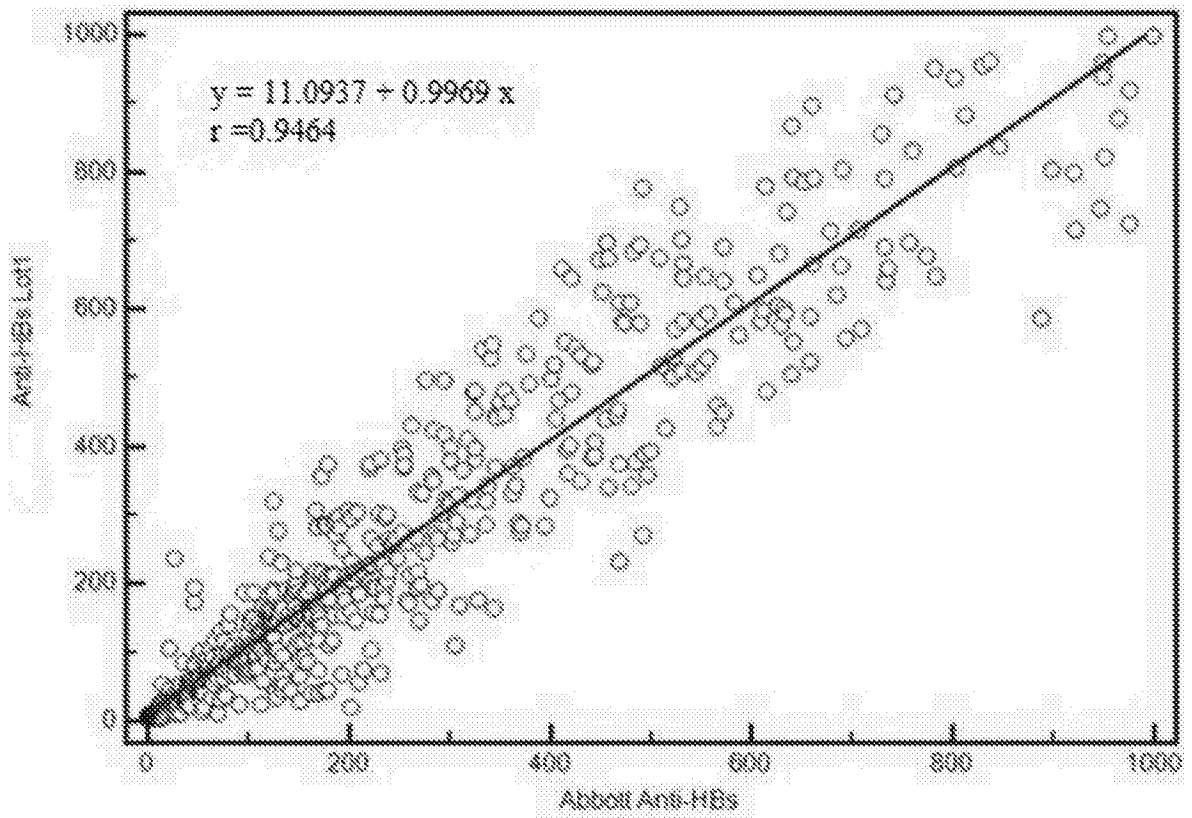


图2

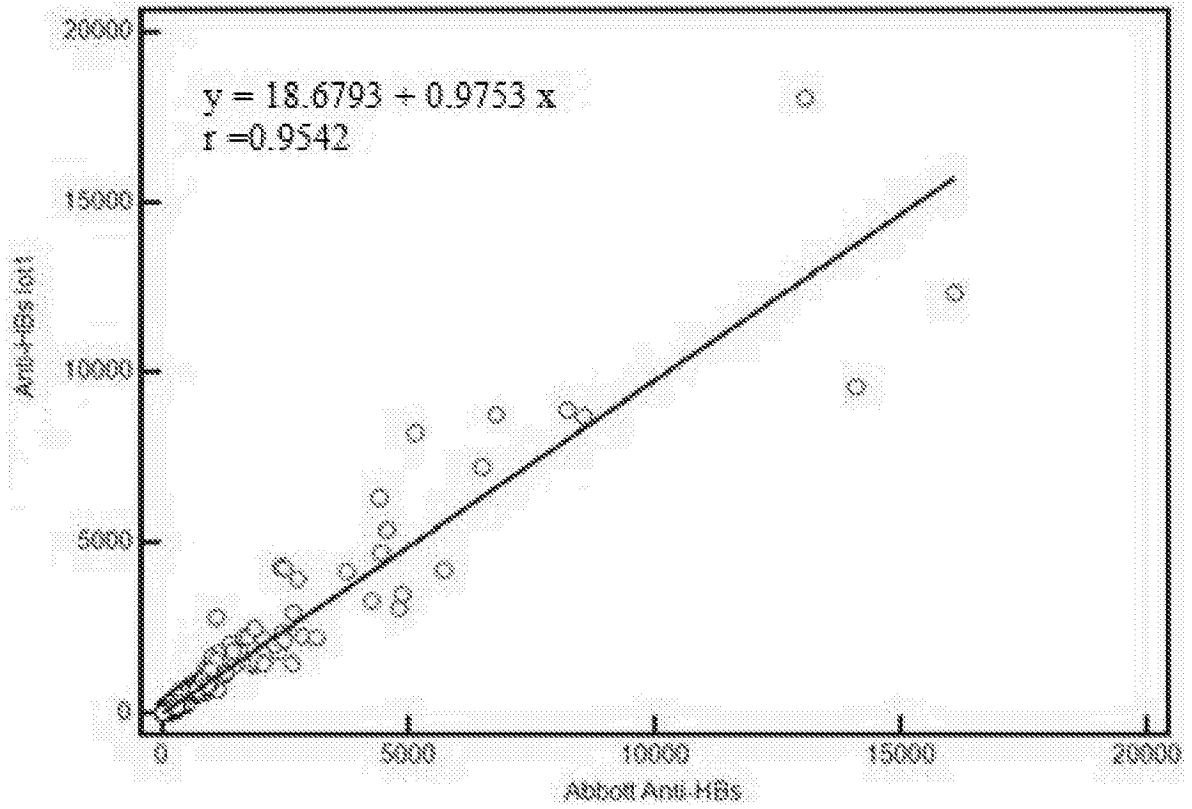


图3

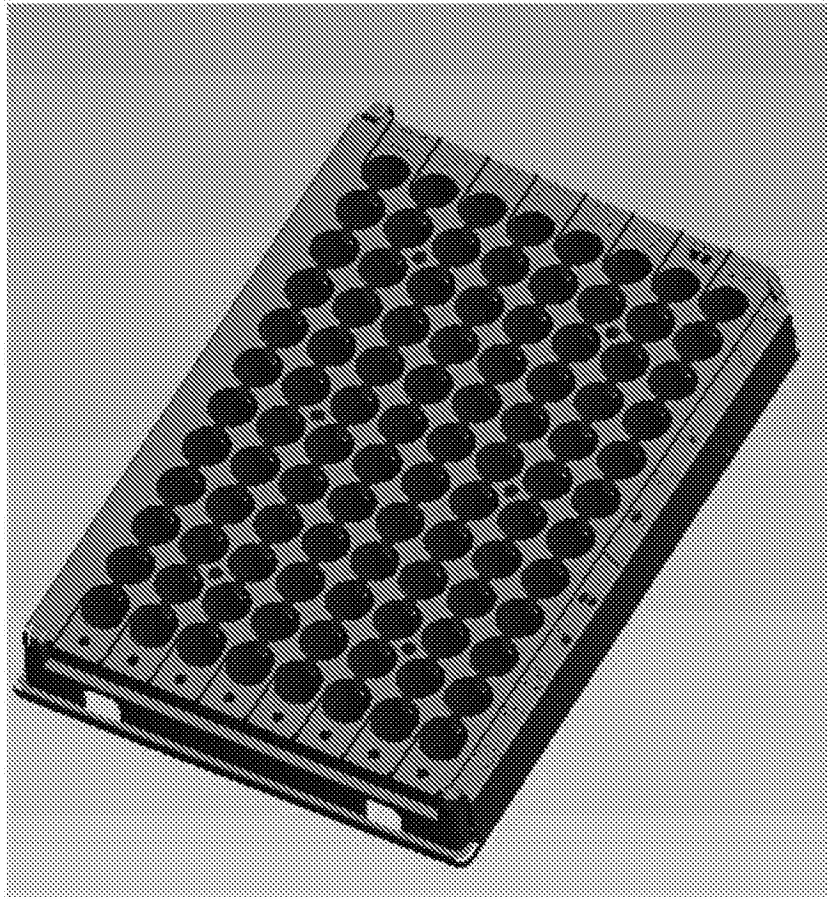


图4

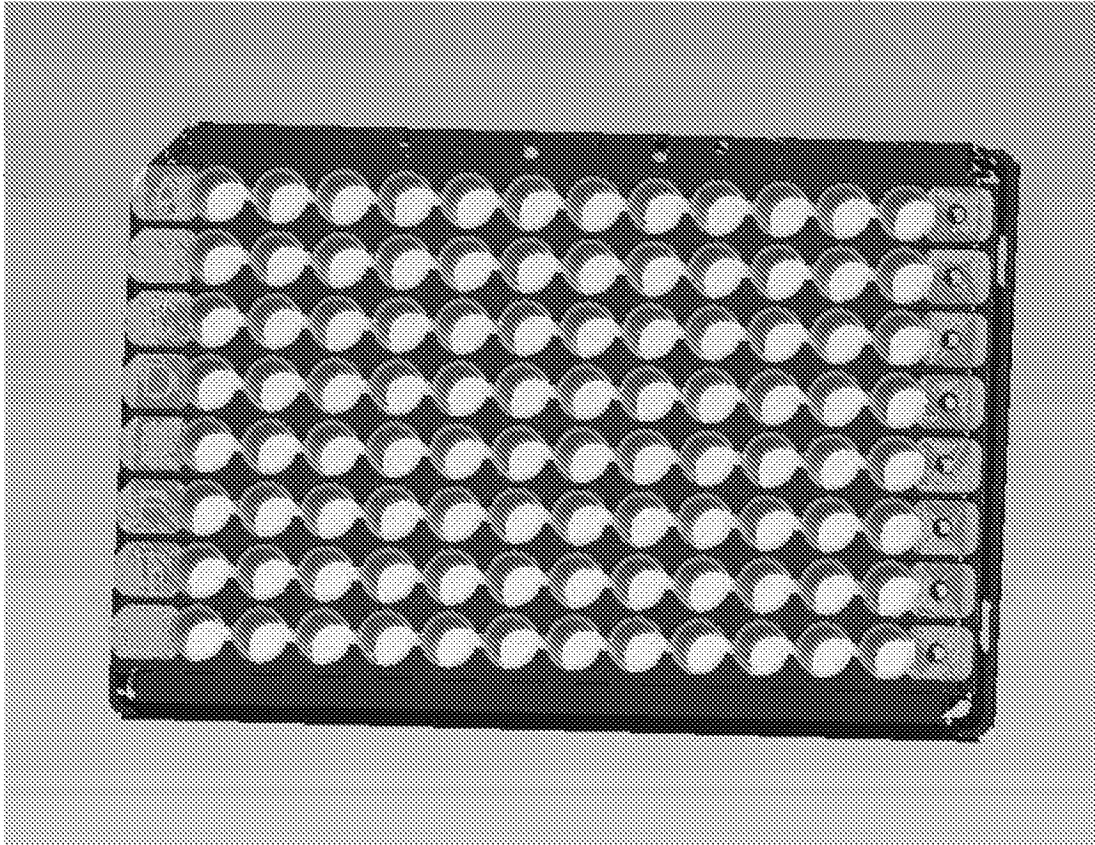


图5

专利名称(译)	一种HBV表面抗体时间分辨免疫荧光检测试剂盒及其制备方法		
公开(公告)号	<a href="#">CN105938146A</a>	公开(公告)日	2016-09-14
申请号	CN201610255505.1	申请日	2016-04-22
[标]申请(专利权)人(译)	苏州新波生物技术有限公司		
申请(专利权)人(译)	苏州新波生物技术有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	苏州新波生物技术有限公司		
[标]发明人	李楠 黄加喜 于春红		
发明人	李楠 黄加喜 于春红		
IPC分类号	G01N33/68 G01N33/569 G01N33/543 G01N33/534		
CPC分类号	G01N33/6854 G01N33/534 G01N33/543 G01N33/56983 G01N2333/02 G01N2469/20		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本发明的一种HBV表面抗体时间分辨免疫荧光检测试剂盒，本试剂盒采用的是时间分辨免疫荧光分析法，可有效地排除非特异性荧光的干扰，极大的提高了灵敏度；另外，本发明的包被反应板的为完全不透光的板架和相应配合的酶标板组成，每个微孔之间完全无影响，使得阴性样本与Blank的荧光本底大大降低，信噪比显著提高，酶标板包被采用特殊辐照，使得包被效果显著提高，进一步地提高了试剂盒的灵敏度；同时本试剂盒包被用的HBV表面抗原采用特定方法而获得，亦提高了表面抗原的纯度及得率，使得包被和检测效果进一步提高，使得本发明具有和进口试剂盒相似甚至更高的检测灵敏度，但成本远低于进口试剂盒，适合规模生产和应用。

