



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106645729 A

(43)申请公布日 2017. 05. 10

(21)申请号 201611115265.1

(22)申请日 2016.12.07

(71)申请人 上海芯超生物科技有限公司

地址 200233 上海市浦东新区李冰路151号  
5号楼4楼

(72)发明人 辛鑫 郜恒骏 张小燕 陈志明  
牟晓庆

(74)专利代理机构 上海宣宜专利代理事务所  
(普通合伙) 31288

代理人 杨小双

(51) Int. Cl.

G01N 33/577(2006.01)

G01N 33/532(2006.01)

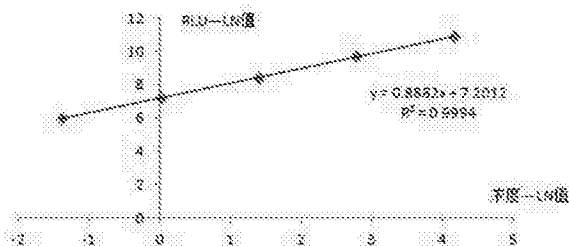
权利要求书1页 说明书8页 附图1页

(54)发明名称

一种定量检测结核分枝杆菌r干扰素的化学发光试剂盒及其制备方法、检测方法、评价方法

(57)摘要

本发明提供了一种定量检测结核分枝杆菌r干扰素的化学发光试剂盒及其制备方法、检测方法、评价方法,其中化学发光试剂盒包括血样刺激系统和免疫检测系统,所述血样刺激系统包括培养管、血样刺激用对照品、结核特异性刺激蛋白;所述免疫检测系统包括包被有r干扰素克隆抗体的化学发光板、生物素标记的r干扰素克隆抗体、链霉亲和素标记的酶底物和酶促发光底物,本发明采用酶促化学发光法,利用化学发光板中的r干扰素单克隆抗体或r干扰素多克隆抗体作为捕获抗体,以生物素标记的r干扰素单克隆抗体或r干扰素多克隆抗体作为检测抗体。提高了试剂盒的检测灵敏度和准确性,且便于大通量样本检测,也大大减少了样本使用量。



1. 一种定量检测结核分枝杆菌r干扰素的试剂盒,其特征在于,包括血样刺激系统和免疫检测系统,所述血样刺激系统包括培养管、血样刺激用对照品、结核特异性刺激蛋白;所述免疫检测系统包括包被有r干扰素克隆抗体的化学发光板、生物素标记的r干扰素克隆抗体、链霉亲和素标记的酶底物和酶促发光底物。

2. 如权利要求1所述的一种定量检测结核分枝杆菌r干扰素的试剂盒,其特征在于,所述血样刺激用对照品包括血样刺激用阴性对照品和血样刺激用阳性对照品;所述包被有r干扰素克隆抗体的化学发光板包括包被有r干扰素单克隆抗体或r干扰素多克隆抗体的化学发光板;所述生物素标记的r干扰素克隆抗体包括生物素标记的r干扰素单克隆抗体或r干扰素多克隆抗体;所述链霉亲和素标记的酶底物包括辣根过氧化物酶或碱性磷酸酶。

3. 如权利要求2所述的一种定量检测结核分枝杆菌r干扰素的试剂盒,其特征在于,所述血样刺激用阴性对照品中包括AIM-V培养液。

4. 如权利要求1所述的一种定量检测结核分枝杆菌r干扰素的试剂盒,其特征在于,所述结核特异性刺激蛋白包括AIM-V培养液和结核分枝杆菌特异性刺激蛋白ESAT6和CFP10的独立蛋白混合或ESAT6和CFP10融合蛋白。

5. 如权利要求2所述的一种定量检测结核分枝杆菌r干扰素的试剂盒,其特征在于,所述血样刺激用阳性对照品中包括AIM-V培养液、磷酸盐缓冲液、植物血凝素或CD3细胞因子。

6. 如权利要求2所述的一种定量检测结核分枝杆菌r干扰素的试剂盒,其特征在于,所述生物素标记的r干扰素单克隆抗体或r干扰素多克隆抗体的缓冲液为磷酸盐缓冲液和蛋白保护剂。

7. 如权利要求2所述的一种定量检测结核分枝杆菌r干扰素的试剂盒,其特征在于,所述链霉亲和素标记的辣根过氧化物酶或碱性磷酸酶的缓冲液为磷酸盐缓冲液和蛋白保护剂。

8. 一种如权利要求1-7任一项所述的一种定量检测结核分枝杆菌r干扰素的试剂盒的制备方法,其特征在于,包括以下步骤:

r干扰素单克隆抗体或多克隆抗体包被化学发光板的制备;

生物素标记的r干扰素单克隆抗体或r干扰素多克隆抗体及工作液的制备;

链霉亲和素标记的辣根过氧化物酶或碱性磷酸酶及工作液的制备;

校准品的制备;

洗涤液的制备。

9. 一种如权利要求1-7任一项所述的一种定量检测结核分枝杆菌r干扰素的试剂盒的检测方法,其特征在于,包括以下步骤:

血样培养;

r干扰素检测。

10. 一种如权利要求1-7任一项所述的一种定量检测结核分枝杆菌r干扰素的试剂盒的评价方法,其特征在于,包括以下步骤:

根据试剂盒的检测结果绘制标准曲线;

根据上述的标准曲线计算最低检出限和精密性值;

根据上述最低检出限和精密性值来判定检测样本的阴阳性。

## 一种定量检测结核分枝杆菌r干扰素的化学发光试剂盒及其制备方法、检测方法、评价方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及免疫分析技术领域,具体涉及到一种定量检测结核分枝杆菌r干扰素的化学发光试剂盒及其制备方法、检测方法、评价方法。

### 背景技术

[0002] 结核病在全世界仍为危害人类健康和生命的主要传染病之一。目前全世界结核病患者约有2000万人,每年新增结核病患者800万人左右,每年因结核病死亡人数约300万人。我国仅次于印度,位居世界第二。通过近几年的流行病学抽样调查初步结果表明,我国约5亿人口感染结核分枝杆菌,现有结核病人约500万人,每年约10万人死亡于结核病,在我国传染病中位居第一。面对如此严峻的形势,结核病的预防和控制已经引起国内外政府和学者的高度重视。因此结核病的早期诊断和治疗对结核病控制尤为重要。

[0003] 机体对结核分枝杆菌的免疫应答主要体现为细胞免疫。因此对于结核分枝杆菌的检测只有通过细胞免疫应答进行,近年来,一种用于诊断结核分枝杆菌的新方法进入人们视线,其利用特异性刺激蛋白对已感染结核杆菌的细胞进行刺激培养,机体细胞会分泌大量的r干扰素,利用免疫手段对分泌的特异性的r干扰素进行检测,间接的体现机体细胞的结核分枝杆菌的受感染情况,该检测原理被称为r干扰素释放试验(IGRA)技术。

[0004] 在该检测原理基础上衍生出了多种检测方法学,目前市场上所拥有的包括酶联免疫斑点(ELISPOT)法、酶联免疫(ELISA)法。ELISPOT检测的检测灵敏度较高,但因该检测方法在抽取病人血样后需要做淋巴细胞分离计数后再进行后期的刺激培养过夜及免疫检测程序,操作复杂,专业门槛较高,大大限制了检测通量,另外因其涉及的配套设备和试剂较多,也大大增加了检测成本及操作过程中的错误率发生。ELISA检测因使用全血培养,节省了较多操作时间,在检测通量上也弥补了ELISPOT的缺陷,但因为检测方法学的限制,其检测灵敏度较低,对于低免疫力或淋巴细胞数量偏低的人群,其检测结果的不确定性较高,无法做到精确的诊断,且因其检测低灵敏度的原因,所需检测血样量也较高,需要不低于每个培养管1mI的血量。

### 发明内容

[0005] 为了解决上述不足的缺陷,本发明提供了一种定量检测结核分枝杆菌r干扰素的化学发光试剂盒及其制备方法、检测方法、评价方法,可以实现检测灵敏度高、特异性好、操作简便,检测通量高,检测成本低,检测样本量少且不需要太多复杂的辅助设备。

[0006] 本发明提供了一种定量检测结核分枝杆菌r干扰素的试剂盒,包括血样刺激系统和免疫检测系统,所述血样刺激系统包括培养管、血样刺激用对照品、结核特异性刺激蛋白;所述免疫检测系统包括包被有r干扰素克隆抗体的化学发光板、生物素标记的r干扰素克隆抗体、链霉亲和素标记的酶底物和酶促发光底物。

[0007] 上述的试剂盒,其中,所述血样刺激用对照品包括血样刺激用阴性对照品和血样

刺激用阳性对照品；所述包被有r干扰素克隆抗体的化学发光板包括包被有r干扰素单克隆抗体或r干扰素多克隆抗体的化学发光板；所述生物素标记的r干扰素克隆抗体包括生物素标记的r干扰素单克隆抗体或r干扰素多克隆抗体；所述链霉亲和素标记的酶底物包括辣根过氧化物酶或碱性磷酸酶。

[0008] 上述的试剂盒，其中，所述血样刺激用阴性对照品中包括AIM-V培养液。

[0009] 上述的试剂盒，其中，所述结核特异性刺激蛋白包括AIM-V培养液和结核分枝杆菌特异性刺激蛋白ESAT6和CFP10的独立蛋白混合或ESAT6和CFP10融合蛋白。

[0010] 上述的试剂盒，其中，所述血样刺激用阳性对照品中包括AIM-V培养液、磷酸盐缓冲液、植物血凝素或CD3细胞因子。

[0011] 上述的试剂盒，其中，所述生物素标记的r干扰素单克隆抗体或r干扰素多克隆抗体的缓冲液为磷酸盐缓冲液和蛋白保护剂。

[0012] 上述的试剂盒，其中，所述链霉亲和素标记的辣根过氧化物酶或碱性磷酸酶的缓冲液为磷酸盐缓冲液和蛋白保护剂。

[0013] 同时在另一种实施例中，本发明还提供了一种定量检测结核分枝杆菌r干扰素的试剂盒的制备方法，包括以下步骤：

[0014] r干扰素单克隆抗体或多克隆抗体包被化学发光板的制备；

[0015] 生物素标记的r干扰素单克隆抗体或r干扰素多克隆抗体及工作液的制备；

[0016] 链霉亲和素标记的辣根过氧化物酶或碱性磷酸酶及工作液的制备；

[0017] 校准品的制备；

[0018] 洗涤液的制备。

[0019] 本发明的另一面，本发明还提供了一种定量检测结核分枝杆菌r干扰素的试剂盒的检测方法，包括以下步骤：

[0020] 血样培养；

[0021] r干扰素检测。

[0022] 本发明的再一面，本发明还提供了一种定量检测结核分枝杆菌r干扰素的试剂盒的评价方法，包括以下步骤：

[0023] 根据试剂盒的检测结果绘制标准曲线；

[0024] 根据上述的标准曲线计算最低检出限和精密性值；

[0025] 根据上述最低检出限和精密性值来判定检测样本的阴阳性。

[0026] 本发明具有以下优点：采用酶促化学发光法，将r干扰素单克隆抗体或r干扰素多克隆抗体包被于化学发光板中，利用酶促催化发光底物，并利用生物素放大系统，提高了试剂盒的灵敏度和准确性；同时对于样本使用量为3.0mI以下；实验证明，化学发光法配合生物素放大系统是一种检测r干扰素的有效方法，且进一步证明了对3.0mI以下的血样量的检测结果也有效的符合于临床评判。

[0027] 具体优点包括：

[0028] 1、化学发光法配合生物素放大系统检测系统，对于T淋巴细胞偏少的样本的检测结果与市面上ELISA试剂盒做了比对，本发明试剂盒的检测灵敏度明显高于ELISA试剂盒，能够对ELISA检测结果不确定的样本，做出很好的结果判断；

[0029] 2、本发明试剂盒在血样处理上，没有T淋巴细胞分离过程，为全血直接培养，在此

操作上与市面上的ELISPOT试剂盒比较,减少了操作程序,避免了更多的操作失误,也节省了更多的操作时间,降低了操作所需试剂耗材的成本损耗;且因本发明试剂盒无需做太多血样处理,操作简便,对于所需设备也无很高要求,可实现高通量检测,免疫诊断部分可实现半自动化或全自动化批量操作。

[0030] 3、目前市场上的ELISA试剂盒所需样本量为3mI以上;ELISPOT试剂盒所需样本量为5mI以上,对于低免疫人群的样本量需求更高,甚至达到8-10mI,本发明试剂盒对于血样样本量的最高要求仅为3.0mI,大大减少了病人的血样抽取量。

### 附图说明

[0031] 通过阅读参照以下附图对非限制性实施例所作的详细描述,本发明及其特征、外形和优点将会变得更明显。在全部附图中相同的标记指示相同的部分。并未刻意按照比例绘制附图,重点在于示出本发明的主旨。

[0032] 图1为本发明提供的化学发光检测试剂盒的标准曲线。

### 具体实施方式

[0033] 在下文的描述中,给出了大量具体的细节以便提供对本发明更为彻底的理解。然而,对于本领域技术人员而言显而易见的是,本发明可以无需一个或多个这些细节而得以实施。在其他的例子中,为了避免与本发明发生混淆,对于本领域公知的一些技术特征未进行描述。

[0034] 为了彻底理解本发明,将在下列的描述中提出详细的步骤以及详细的结构,以便阐释本发明的技术方案。本发明的较佳实施例详细描述如下,然而除了这些详细描述外,本发明还可以具有其他实施方式。

[0035] 本发明提供了一种定量检测结核分枝杆菌r干扰素的试剂盒,包括血样刺激系统和免疫检测系统,所述血样刺激系统包括培养管、血样刺激用对照品、结核特异性刺激蛋白;所述免疫检测系统包括包被有r干扰素克隆抗体的化学发光板、生物素标记的r干扰素克隆抗体、链霉亲和素标记的酶底物和酶促发光底物。其中培养管中血样需求量在1.0mI及以下,也即每个检测样本量所需样本量在3mI以下,目前市场上的ELISA试剂盒所需样本量为3mI以上;ELISPOT试剂盒所需样本量为5mI以上,对于低免疫人群的样本量需求更高,甚至达到8-10mI,本发明试剂盒对于血样样本量的最高要求仅为3.0mI,大大减少了病人的血样抽取量。

[0036] 在本发明一优选但非限制的实施例中,血样刺激用对照品包括血样刺激用阴性对照品和血样刺激用阳性对照品;包被有r干扰素克隆抗体的化学发光板包括包被有r干扰素单克隆抗体或r干扰素多克隆抗体的化学发光板,进一步,包被于化学发光板中的r干扰素单克隆抗体或r干扰素多克隆抗体的浓度在于1~3ug/ml;生物素标记的r干扰素克隆抗体包括生物素标记的r干扰素单克隆抗体或r干扰素多克隆抗体;链霉亲和素标记的酶底物包括辣根过氧化物酶或碱性磷酸酶。其中链霉亲和素标记的酶底物并不限于辣根过氧化物酶或碱性磷酸酶,进一步,辣根过氧化物酶为辣根过氧化氢酶。

[0037] 在本发明一优选但非限制的实施例中,血样刺激用阴性对照品中包括AIM-V培养液。

[0038] 在本发明一优选但非限制的实施例中,结核特异性刺激蛋白包括AIM-V培养液和结核分枝杆菌特异性刺激蛋白ESAT6和CFP10的独立蛋白混合或ESAT6和CFP10融合蛋白。

[0039] 在本发明一优选但非限制的实施例中,血样刺激用阳性对照品中包括AIM-V培养液、磷酸盐缓冲液、植物血凝素或CD3细胞因子。

[0040] 在本发明一优选但非限制的实施例中,生物素标记的r干扰素单克隆抗体或r干扰素多克隆抗体的缓冲液为磷酸盐缓冲液和蛋白保护剂。

[0041] 在本发明一优选但非限制的实施例中,链霉亲和素标记的辣根过氧化物酶或碱性磷酸酶的缓冲液为磷酸盐缓冲液和蛋白保护剂,其中保护蛋白剂可以为酪蛋白、牛血清白蛋白、明胶、动物血清或人血清。

[0042] 在本发明一优选但非限制的实施例中,酶促发光底物为辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶的酶促发光底物。

[0043] 在本发明一优选但非限制的实施例中,试剂盒中还包含r干扰素校准品。本发明的另一面,一种定量检测结核分枝杆菌r干扰素的试剂盒的制备方法,包括以下步骤:

[0044] 步骤S1:r干扰素单克隆抗体或多克隆抗体包被化学发光板的制备,具体包括,利用磷酸盐缓冲液或碳酸盐缓冲液将r干扰素单克隆抗体或多克隆抗体稀释至1~3ug/ml,按照100uI/孔加入化学发光板中,并于4℃放置16~20小时后,取出化学发光板,甩干残液,利用如牛血清白蛋白、酪蛋白、明胶、动物或人血清等进行封闭处理,按照120uI~200uI/孔加样,37℃放置2小时或4℃放置16~20小时,甩干残液,干燥保存于4℃备用。

[0045] 步骤S2:生物素标记的r干扰素单克隆抗体或r干扰素多克隆抗体及工作液的制备,具体包括步骤S2a:生物素标记的r干扰素单克隆抗体或r干扰素多克隆抗体制备,具体为利用0.1M PBS pH7.2配制10mM NHS-DPEG4-Biotin工作溶液。将r干扰素单克隆抗体或多克隆抗体加入适量的10mM NHS-DPEG4-Biotin工作溶液中,于室温反应1小时,利用葡聚糖凝胶分离纯化,去除游离生物素,加入0.1%BSA,放置4℃备用;步骤S2b:生物素标记的r干扰素单克隆抗体或r干扰素多克隆抗体工作液的制备,具体包括:稀释液的制备:0.01M PB缓冲液(pH7.4),1%酪蛋白或1%BSA,0.1%procIn300;工作液的制备:用稀释液稀释生物素标记好的r干扰素单克隆抗体或r干扰素多克隆抗体后得到生物素标记的r干扰素单克隆抗体或r干扰素多克隆抗体工作液,其稀释比例在1:500~1:5000,优选比例比例为1:1000。

[0046] 步骤S3:链霉亲和素标记的辣根过氧化物酶或碱性磷酸酶及工作液的制备,具体包括步骤S3a:链霉亲和素标记的辣根过氧化物酶或碱性磷酸酶的制备,其中包括采用戊二醇法,将辣根过氧化物酶或碱性磷酸酶配置成50IU/ml,取适量,加入含1.25%戊二醛的pH6.8的PBS溶液中,混匀至室温下反应过夜。收集反应液,利用PBS(pH7.2)透析4次,取适量SA溶于1moI/L碳酸盐缓冲液(pH9.5)中,与透析后的反应液混匀,于4℃反应,并加入适量0.2moI/L赖氨酸溶液。混匀,室温反应2小时,利用0.05moI/L PBS(pH7.2)透析4次。离心取上清液,至4℃备用。步骤S3b:链霉亲和素标记的辣根过氧化物酶或碱性磷酸酶工作液的制备,其中包括,稀释液的制备:0.1M TB缓冲液(pH7.4),1%酪蛋白或1%BSA,0.1%procIn300;工作液的制备:用稀释液稀释链霉亲和素标记的辣根过氧化物酶或碱性磷酸酶后得到链霉亲和素标记的辣根过氧化物酶工作液或链霉亲和素标记的碱性磷酸酶工作液,其稀释比例在1:500~1:5000,优选稀释比例为1:1000。

[0047] 步骤S4:校准品的制备,具体包括:r干扰素校准品抗原为基因重组的浓度 $\geq 95\%$

的人r干扰素蛋白或国际(WHO/NIBSC)和国家中检院提供的人r干扰素标准品物质,本发明试剂盒中涉及的r干扰素校准品的稀释液为AIM-V或含1%BSA的PB缓冲液,内含0.1%procIn300。稀释浓度梯度为:0IU/ml、0.25IU/ml、1.0IU/ml、4.0IU/ml、16.0IU/ml、64.0IU/ml,用于制作检测标准曲线,制作的标注曲线如图1所示的其中一种实施例。

[0048] 步骤S5:洗涤液的制备,具体包括:洗涤液为0.01M PBST溶液,配制1L的洗涤液:二水磷酸二氢钠9.75g、十二水磷酸氢二钠51g、氯化钠155g、Tween20 10ml,内含0.1%procIn300,使用时利用超纯水20倍稀释。

[0049] 本发明的还提供了一种定量检测结核分枝杆菌r干扰素的试剂盒的检测方法,具体包括以下步骤:

[0050] 步骤a:血样培养,具体包括,肝素抗凝血样管抽取血样3.0ml量;在血样离体6-8小时内,按照1.0ml/管血样分别加入阴性对照培养管、特异性刺激培养管、阳性对照培养管;血样管上下颠倒8-10次或5秒时间,使血样与培养管中的物质充分混匀,此阶段若产生气泡对后续检测无影响;将血样培养管竖直放置37℃培养箱中,孵育20~24小时。

[0051] 步骤b:r干扰素检测阶段,具体包括20倍稀释浓缩洗涤液至工作浓度;按照稀释梯度进行标准品浓度稀释,并加入化学发光板中,50uI/孔,做好标示;取出培养管,抽取上清液作为检测样本;也可离心机离心获取上清液;按照50uI/孔加入对应板孔,做好标示;取生物素标记的r干扰素抗体工作液,按照50uI/孔加入对应板孔;37℃孵育2h,取出,每孔200uI洗涤液,洗涤4次,拍干;取链霉亲和素标记的过氧化物酶工作液或链霉亲和素标记的碱性磷酸酶工作液,按照50uI/孔加入对应反应孔;50uI/孔,放置37℃反应30min取出发光板,每孔200uI洗涤液,洗涤4次,拍干;每孔加入50uI酶发光底物,读取发光值;分别取校准品梯度的浓度值和发光值的对数值,制作标准曲线,获得曲线方程;将待测样本的发光值取对数值代入,计算出待测样本浓度值的对数值,取指数,即为待测样本的浓度值。

[0052] 本发明还提供了一种定量检测结核分枝杆菌r干扰素的试剂盒的评价方法,具体包括步骤(1):根据试剂盒的检测结果绘制标准曲线,具体为本发明试剂盒用校准品浓度(0IU/ml剔除,该值作为反应板本底考虑,不计入标准曲线范围内)的In值作为X值,对应浓度检测的发光值RLU分别取对数做Y值,以此做一元一次方程。如图1所示,所绘制的标准曲线回归方程为 $y=0.8882x+7.2012$ , $R^2=0.9994$ 。

[0053] 步骤(2):根据上述的标准曲线计算最低检出限和精密性值,具体包括本发明试剂盒在检测标准曲线的同时检测最低检出限参考品(0.1IU/ml)10次,并通过标准曲线计算最低检出限参考品的平均浓度值(x)和标准差(SD)。根据公式:检出限= $X+2SD$ ,计算样品的最低检出限,结果如表1,本发明试剂盒对血样检测IFN-r的最低检出限为 $0.139IU/ml < 0.15IU/ml$ ,如表1所示为IFN-r化学发光检测试剂盒的最低检出限。同上述最低检出限的检测结果,本发明试剂盒利用标准差(SD)/平均浓度值(x)所获得的比值即为精密性值,即:标准差 $0.010IU/ml$ 除以平均浓度值 $0.092IU/ml$ ,乘以100%,为 $11.11% < 15%$ 。

[0054] 表1 IFN-r化学发光检测试剂盒的最低检出限

[0055]

样本	平均值 (IU/ml)	标准差 (IU/ml)	最低检出限 (IU/ml)
正常人血样	0.092	0.010	0.112

[0056] 步骤(3):根据上述最低检出限和精密性值来判定检测样本的阴阳性,具体包括,筛选20例新鲜血样,10例明确结核感染阳性患者,10例明确结核感染阴性样本。利用本发明试剂盒进行血样培养及免疫反应检测。对血样进行编号:10例阴性样本N1~N10;10例阳性样本P1~P10对标准曲线浓度值及发光值分别取对数,拟合标准曲线,同时将样本检测发光值取对数值,带入方程式中Y值,计算出X值,并取X值的指数值,即为对应样本发光值的浓度值。对该些浓度值进行数据分析,判定该检测样本的阴阳性。其中阴阳性结果判定依据如下所示:

[0057] 1.当阴性培养管浓度 $\leq 8$ IU/ml:

[0058] 1.1.T-N $< 0.35$ IU/ml,P-N $\geq 0.5$ IU/ml,结果为阴性;

[0059] 1.2.T-N $\geq 0.35$ IU/ml且 $< N/4$ ,P-N $\geq 0.5$ IU/ml,结果为阴性;

[0060] 1.3.T-N $\geq 0.35$ IU/ml且 $\geq N/4$ ,结果为阳性;

[0061] 1.4.T-N $< 0.35$ IU/ml且P-N $< 0.5$ IU/ml,结果为不确定;

[0062] 1.5.T-N $\geq 0.35$ IU/ml且 $< N/4$ ,P-N $< 0.5$ IU/ml,结果为不确定;

[0063] 2.当阴性培养管浓度 $> 8$ IU/ml:

[0064] 任何检测值都判为不确定性。

[0065] 使用本发明的试剂盒检测的结果如表2所示:

[0066] 表2 IFN-r化学发光试剂盒检测10例阴性血样、10例阳性血样的结果

[0067]

样本编号	阴性对照培养管 (IU/ml)	刺激物培养管 (IU/ml)	阳性对照培养管 (IU/ml)	评判结果 (-/+)
N1	0.06	0.06	62.32	-
N2	0.07	0.08	50.67	-
N3	0.38	0.68	98.24	-
N4	0.01	0.01	76.18	-
N5	0.41	0.35	101.83	-
N6	0.12	0.14	133.70	-
N7	0.04	0.08	83.71	-
N8	0.05	0.22	53.71	-
N9	0.07	0.08	34.87	-
N10	1.37	1.44	29.20	-
P1	0.07	1.00	112.28	+
P2	1.82	2.81	83.60	+
P3	0.41	4.50	33.52	+
P4	0.05	1.19	12.71	+
P5	0.34	1.49	53.50	+
P6	0.34	1.11	88.09	+
P7	0.36	4.60	1.87	+
P8	0.13	1.83	90.68	+
P9	0.88	1.85	8.02	+
P10	0.22	1.76	81.83	+

[0068] 从表2可以看出,采用本发明试剂盒检测r干扰素与目前市面上所拥有的ELISPOT方法学检测试剂盒以及ELISA检测试剂盒相比较,具有操作简便、操作灵敏度高、特异性好、检测成本低、样本使用量少,对于设备的要求低等的优点。

[0069] 以上对本发明的较佳实施例进行了描述。需要理解的是,本发明并不局限于上述特定实施方式,其中未尽详细描述的设备 and 结构应该理解为用本领域中的普通方式予以实施;任何熟悉本领域的技术人员,在不脱离本发明技术方案范围情况下,都可利用上述揭示的方法和技术内容对本发明技术方案做出许多可能的变动和修饰,或修改为等同变化的等效实施例,这并不影响本发明的实质内容。因此,凡是未脱离本发明技术方案的内容,依据本发明的技术实质对以上实施例所做的任何简单修改、等同变化及修饰,均仍属于本发明技术方案保护的范围内。

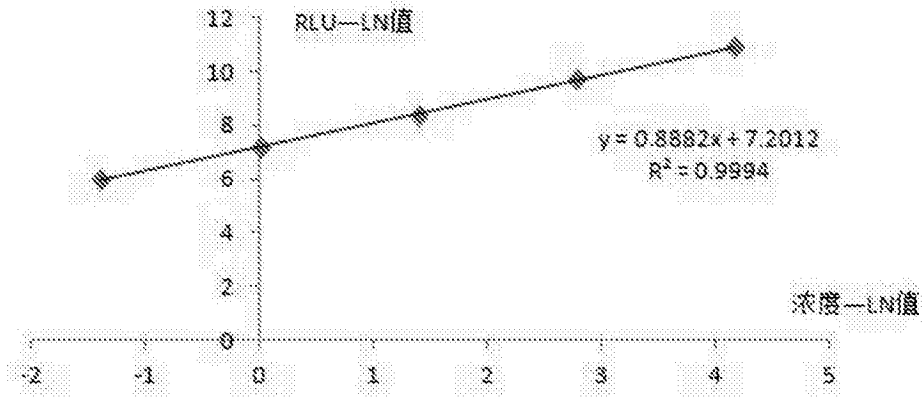


图1

专利名称(译)	一种定量检测结核分枝杆菌r干扰素的化学发光试剂盒及其制备方法、检测方法、评价方法		
公开(公告)号	<a href="#">CN106645729A</a>	公开(公告)日	2017-05-10
申请号	CN201611115265.1	申请日	2016-12-07
[标]申请(专利权)人(译)	上海芯超生物科技有限公司		
申请(专利权)人(译)	上海芯超生物科技有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	上海芯超生物科技有限公司		
[标]发明人	辛鑫 郜恒骏 张小燕 陈志明 牟晓庆		
发明人	辛鑫 郜恒骏 张小燕 陈志明 牟晓庆		
IPC分类号	G01N33/577 G01N33/532		
CPC分类号	G01N33/577 G01N33/532		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本发明提供了一种定量检测结核分枝杆菌r干扰素的化学发光试剂盒及其制备方法、检测方法、评价方法，其中化学发光试剂盒包括血样刺激系统和免疫检测系统，所述血样刺激系统包括培养管、血样刺激用对照品、结核特异性刺激蛋白；所述免疫检测系统包括包被有r干扰素克隆抗体的化学发光板、生物素标记的r干扰素克隆抗体、链霉亲和素标记的酶底物和酶促发光底物，本发明采用酶促化学发光法，利用化学发光板中的r干扰素单克隆抗体或r干扰素多克隆抗体作为捕获抗体，以生物素标记的r干扰素单克隆抗体或r干扰素多克隆抗体作为检测抗体。提高了试剂盒的检测灵敏度和准确性，且便于大通量样本检测，也大大减少了样本使用量。

