



# 人 r-干扰素检测试剂盒（板式化学发光法） 使用说明书

封板膜	张	4
使用说明书	份	1

## 【产品名称】

通用名称：人 r-干扰素检测试剂盒（板式化学发光法）

英文名称：Human interferon r detection kit (plate chemiluminescence)

## 【包装规格】

96T/盒, 32 人份/盒

## 【预期用途】

r-干扰素为一种特异性的细胞因子，在人体被感染结核杆菌之后，利用特异性的多肽刺激

养 T 细胞，会分泌大量的 r-干扰素。通过双抗体夹心法，利用 r-干扰素单克隆抗体进行检测并通

过化学发光仪器进行读数，参照 r-干扰素标准品检测的标准曲线换算出 r-干扰素的分泌量，并以

此来判别样本是否被结核杆菌感染。

我国为结核病重灾人群，每年结核病爆发人数高达 100 万以上，仅次于印度，位居全球第二。除指甲和毛发外全身各处都有受结核杆菌感染侵袭。除了所熟知的肺部结核外，肺外结核占整个结核的发病率的 10%~20%，每年因结核病死亡人数也是一个庞大的数字。针对结核杆菌属于胞内杆菌，利用特异性多肽刺激效应 T 细胞，分泌的 r-干扰素来诊断结核杆菌感染与否，已获得认同。

## 【检验原理】

本产品利用特异性混合多肽刺激全血，进行孵育，取样本的血浆作为检测样本，r-干扰素单克隆抗体包被于化学发光板，检测样本获得的发光值通过标准品制作的标准曲线换算出浓度值，通过判定混合多肽刺激对应的样本值与阴性对照孔的样本值按照公式进行计算，辅助诊断样本是否存在结核杆菌的反应效应。其中阳性质控利用植物血凝素（PHA）作为非特异性刺激，产生大量的 r-干扰素因子。

## 【主要组成成分】

品名	规格	数量
r-干扰素抗体包被板	96T	1
特异性刺激物 20X	180ul	1
阳性刺激物 20X	180ul	1
蛋白稀释液	20ml	1
r-干扰素标准品	400pg/支	2
r-干扰素 HRP 抗体 200X	35ul	1
抗体稀释液	10ml	1
HRP 发光底物 A	7ml	1
HRP 发光底物 B	7ml	1

## 【储存条件及有效期】

2~8℃避光保存，有效期为 6 个月。

## 【样本要求】

(1) 全血样本必须在离体后 6 小时以内加入培养管，并及时放置 37℃恒温箱；样本不得在离体后进行冷藏或冷冻。

(2) 可用于肝素抗凝剂样本（注：EDTA/枸橼酸三钠抗凝样本不可用）。

## 【试剂的准备和保存】

A、r-干扰素标准品的稀释和使用：

配制 0.4ng/ml 标准品：取 1ml 样品稀释液加入标准品管内，盖好盖后静置 10min 以上，然后反复颠倒/搓揉以助其溶解；

配制 6.25pg/ml~100pg/ml 标准品：准备 3 只 EP 管，每管加入 0.3ml 样品稀释液，分别标记为：100pg/ml、25pg/ml、6.25pg/ml，取 0.1ml 400pg/ml 的标准品溶液，混匀后梯度取出 0.1ml，加入下一只 EP 管中，混匀，以此类推；

注意：已稀释 r-干扰素标准品溶液（0.4ng/ml），需要在 24h 以内使用完，不得反复冻融。

B、特异性刺激物的工作液配制（实际配制量应多配制 50-100ul）：

按照 5ul 特异性刺激物（20X）加入蛋白稀释液 95ul 的比例配制工作液，现配现用，轻轻混匀；

C、阳性刺激物的工作液配制实际配制量应多配制 50-100ul）：

按照 5ul 阳性刺激物（20X）加入蛋白稀释液 95ul 的比例配制工作液，现配现用，轻轻混匀；

D、r-干扰素 HRP 抗体工作液配制：

根据每孔需要 50ul 计算总的用量（实际配制量应多配制 50-100ul）

按 1ul r-干扰素 HRP 抗体加抗体稀释液 199ul 的比例配制工作液，轻轻混匀；

## 【检验方法】

### 培养系统

在进行操作前必须完整阅读使用说明书，使用前将试剂盒与培养管平衡到室温。

1. 肝素抗凝管抽取病人血样不少于 3ml；颠倒混匀 8-10 次或 5 秒钟以上；
2. 按照样本数量分别取对应数量的培养管（N 管、T 管、P 管），并在管标签上标注好编号；按照以下步骤加入刺激培养物：  
阴性对照培养管（N 管）：蛋白稀释液，100ul/管  
多肽刺激培养管（T 管）：特异性刺激物，100ul/管  
阳性对照培养管（P 管）：阳性刺激物，100ul/管

3. 在 6-8 小时以内，混匀血样，取样器分别取同源样本的 1ml 全血样本至同一编号的培养管中（N 管、T 管、P 管）（举例：2 个全血样本，标注编号为 1、2，则取编号 1 样本混匀后全血各 1ml 分别加入对应的培养管（1N、1T、1P），取编号 2 样本混匀后全血各 1ml 分别加入对应的培养管（2N、2T、2P）），按照顺序竖直放入管架，置 37℃ 培养 22±2 小时；

### 检测系统

4. 取出培养管，准备对应数量的 EP 管，标好编号，抽取上清液作为检测样本；也可离心机离心（3000rpm, 1-2min）获取上清液；根据待检测样品数量，计算好所需使用的板孔数量，总数=3 孔（N、T、P）\*样本数+4 孔（标准曲线）+1 孔（空白对照）。其余板条及时包装好放回 2-8℃保存；

6. 所有参与实验的反应孔加入 20ul/孔蛋白稀释液；
7. r-干扰素标准品，利用标准品稀释液稀释出浓度梯度为：400pg/ml、100pg/ml、25pg/ml、6.25pg/ml、0pg/ml（蛋白稀释液）；
8. 依次加入标准品浓度梯度和样本液，第一孔为“0”孔，加入蛋白稀释液，50ul/孔；
9. 利用封板膜封好，37℃反应 1h；
10. 抗体稀释液将 r-干扰素 HRP 抗体（200X）稀释至工作液浓度；
11. 取出化学发光板，按照 50ul/孔直接加入 r-干扰素 HRP 抗体工作液，37℃孵育 1h；
12. 取出，洗涤液 1X 按照 300ul/孔，洗涤 5 次，拍干；
13. 取 HRP 发光底物 A/B，计算所需量，按照 1:1 混合，100ul/孔加入反应孔；
14. 利用化学发光仪判读；制作一元一次方程标准曲线，并换算样本浓度值；
15. 根据二管获得的浓度值按照计算公式进行判定对应样本结核杆菌感染情况。

## 【结果判读】

多肽刺激培养管（T）浓度值=T，阴性对照培养管（N）浓度值=N，阳性对照培养管（P）浓度值=P，

N	P-N	T-N	结果判定	结果解释
≤ 400pg/ml	任何值	≥14pg/ml 且 ≥N/4	阳性	感染结核分枝杆菌
	≥20pg/ml	<14pg/ml	阴性	未感染结核分枝杆菌
	≥20pg/ml	≥14pg/ml 但 <N/4	阴性	未感染结核分枝杆菌
	<20pg/ml	<14pg/ml	不确定	不能确定是否感染结核分枝杆菌
> 400pg/ml	任何值	任何值	不确定	不能确定是否感染结核分枝杆菌

## 【检测结果的解释】

在人群中，有极少数患者的 N 值>400pg/ml，所测得的 r-干扰素浓度不会与结核杆菌感染程度、免疫反应水平、或可能发展至活动性结核有相关关系，需综合判断；

## 【产品性能指标】

1. 本试剂盒 r-干扰素标准品为溯源 NIBSC 国际标准品获得；
2. 对甘油三酯含量达 16mg/L 的样本进行试验，未发现有明显影响检测结果的判断；
3. 经实验发现，EDTA、枸橼酸三钠抗凝剂对检测结果有严重影响；

## 【注意事项】

1. 本试剂盒仅供科研使用，不得用于临床诊断。
2. 如发现试剂盒外包装破损则需废弃，并及时联系商家协助处理。
3. 当试剂盒所含的标准曲线的 R 值低于 0.95 以下，应立即停止使用并与当地供货商联系。
4. 请保证足量的样本用于检测，过少的样本量都有可能造成结果出现偏差。
5. 本测试过程中需接触血液样本，请按微生物和生物医学实验室生物安全通用准则操作。

## 【参考文献】

- 1、《中国生物制品规程》（2000 年版）。
- 2、蒋英，等。干扰素释放酶联免疫法(TB-IGRA)用于检测结核分枝杆菌的优越性.实用预防医学, 2012 年 01 期
- 3、王翔，林金明. 化学发光免疫分析技术新进展. Chinese Journal of Analysis Laboratory, Vol.26.No.6 2007-6

上海磐超生物科技有限公司

上海市闵行区沈杜公路 3872 号源发展 F 楼 C401 室 电话：021-31550304

邮箱：techsupport@pc-biotech.com

网址：www.pc-biotech.com