



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109212210 A

(43)申请公布日 2019.01.15

(21)申请号 201811076257.X

(22)申请日 2018.09.14

(71)申请人 厦门大学附属中山医院

地址 361004 福建省厦门市思明区湖滨南路201-209号

申请人 厦门市波生生物技术有限公司

(72)发明人 林丽蓉 杨天赐 童曼莉 刘莉莉
林勇 朱晓桢 张长弓

(74)专利代理机构 厦门南强之路专利事务所
(普通合伙) 35200

代理人 马应森

(51)Int.Cl.

G01N 33/571(2006.01)

G01N 33/535(2006.01)

G01N 33/92(2006.01)

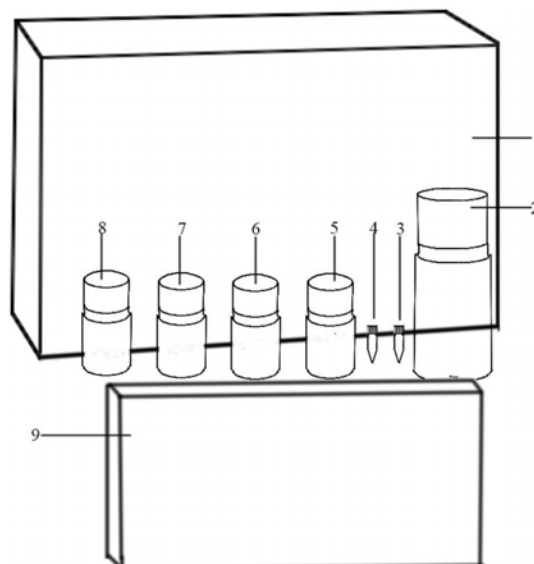
权利要求书2页 说明书5页 附图1页

(54)发明名称

梅毒螺旋体特异性心磷脂抗体检测试剂盒
及其制备方法

(57)摘要

梅毒螺旋体特异性心磷脂抗体检测试剂盒及其制备方法,涉及梅毒螺旋体。梅毒螺旋体特异性心磷脂抗体检测试剂盒设有心磷脂抗原包被微孔板、辣根过氧化物酶标记的抗人Ig单克隆抗体、显色液A、显色液B、浓缩洗涤液、反应终止液、阴性对照品、阳性对照品和外包装盒。提取梅毒螺旋体外膜;提取梅毒螺旋体心磷脂抗原;制备心磷脂抗原包被微孔板;制备抗人Ig单克隆抗体;制备辣根过氧化物酶标记的抗人Ig单克隆抗体;提供显色液A、显色液B、浓缩洗涤液、反应终止液和对照品;制备梅毒螺旋体特异性心磷脂抗体试剂盒。可检测梅毒患者体内的梅毒螺旋体特异性心磷脂抗体,假阳性率低,操作简单。



1. 梅毒螺旋体特异性心磷脂抗体检测试剂盒, 其特征在于设有心磷脂抗原包被微孔板、辣根过氧化物酶标记的抗人Ig单克隆抗体、显色液A、显色液B、浓缩洗涤液、反应终止液、阴性对照品、阳性对照品和外包装盒; 所述浓缩洗涤液、阴性对照品、阳性对照品、辣根过氧化物酶标记的抗人Ig单克隆抗体、显色液A、显色液B和反应终止液均装在相应的聚乙烯瓶中并与心磷脂抗原包被微孔板一起装在外包装盒内。

2. 如权利要求1所述梅毒螺旋体特异性心磷脂抗体检测试剂盒的制备方法, 其特征在于包括以下步骤:

- 1) 提取梅毒螺旋体外膜;
- 2) 提取梅毒螺旋体心磷脂抗原;
- 3) 制备心磷脂抗原包被微孔板;
- 4) 制备抗人Ig单克隆抗体;
- 5) 制备辣根过氧化物酶标记的抗人Ig单克隆抗体;
- 6) 提供显色液A;
- 7) 提供显色液B;
- 8) 提供浓缩洗涤液;
- 9) 提供反应终止液;
- 10) 提供对照品;
- 11) 制备梅毒螺旋体特异性心磷脂抗体试剂盒。

3. 如权利要求2所述梅毒螺旋体特异性心磷脂抗体检测试剂盒的制备方法, 其特征在于在步骤1) 中, 所述提取梅毒螺旋体外膜的具体方法为: 用超声裂解器充分裂解梅毒螺旋体, 8000r/min 4℃离心20min除去大的细菌碎片, 100000g 4℃离心2h获得梅毒螺旋体外膜。

4. 如权利要求2所述梅毒螺旋体特异性心磷脂抗体检测试剂盒的制备方法, 其特征在于在步骤2) 中, 所述提取梅毒螺旋体心磷脂抗原的具体方法为: 取梅毒螺旋体外膜4mg, 加入氯仿1mL和甲醇0.5mL, 充分振荡, 并于37℃水浴20min, 再加入1.5mL甲醇, 振荡, 500g离心5min, 留取上清; 向上清液中加入氯仿3mL, 然后加入1.2mL溶液A, 500g离心5min, 溶液A分为2层, 用吸管吸走上层溶液, 然后沿管壁加入1.2mL溶液B, 小心旋转, 待分层后再将上层相吸走, 重复2次; 在微弱氮气流下将溶剂挥发, 获得梅毒螺旋体心磷脂抗原; 所述溶液A的组成可为1.80mmol/L CaCl₂、1.79mmol/L MgCl₂和49.57mmol/L NaCl; 所述溶液B的组成可为氯仿、甲醇和水, 所述氯仿、甲醇和水的体积比可为3:48:47。

5. 如权利要求2所述梅毒螺旋体特异性心磷脂抗体检测试剂盒的制备方法, 其特征在于在步骤3) 中, 所述制备心磷脂抗原包被微孔板的具体方法为: 将步骤2) 得到的梅毒螺旋体心磷脂抗原以质量百分比浓度0.003%, 每孔25μL加入微孔板中, 4℃包被24h; 取出心磷脂抗原包被微孔板, 风干; 100μL用pH7.4磷酸盐缓冲液配制的胎牛血清溶液, 室温封闭1h, 取出后用磷酸盐缓冲液洗涤5次, 室温风干, 制备心磷脂抗原包被微孔板, 密封备用。

6. 如权利要求2所述梅毒螺旋体特异性心磷脂抗体检测试剂盒的制备方法, 其特征在于在步骤4) 中, 所述制备抗人Ig单克隆抗体的具体方法为: 以人Ig为抗原免疫Balb/c小鼠, 通过杂交瘤技术, 筛选获得稳定分泌抗人Ig单克隆抗体的杂交瘤细胞株, 采用ELISA的方法鉴定McAb效价在1:10⁷以上。

7. 如权利要求2所述梅毒螺旋体特异性心磷脂抗体检测试剂盒的制备方法,其特征在于在步骤5)中,所述辣根过氧化物酶标记的抗人Ig单克隆抗体采用过碘酸钠法进行辣根过氧化物酶标记。

8. 如权利要求2所述梅毒螺旋体特异性心磷脂抗体检测试剂盒的制备方法,其特征在于在步骤8)中,所述浓缩洗涤液为溶有Tween-20的磷酸盐缓冲液,其中Tween-20的终浓度为0.05%,使用时用蒸馏水进行20倍稀释;

在步骤9)中,所述反应终止液可配制2mmol/L的硫酸作为反应终止液。

9. 如权利要求2所述梅毒螺旋体特异性心磷脂抗体检测试剂盒的制备方法,其特征在于在步骤10)中,所述对照品包括阴性对照品和阳性对照品,所述阴性对照品由非梅毒感染的健康人群血清配制而成,进行检测OD450nm吸光值小于0.1;所述阳性对照品可由梅毒患者的阳性血清配制而成,进行检测OD450nm吸光值大于0.5;所述OD450nm为主波长,450nm是测定的样本显色吸光值。

10. 如权利要求2所述梅毒螺旋体特异性心磷脂抗体检测试剂盒的制备方法,其特征在于在步骤11)中,所述制备梅毒螺旋体特异性心磷脂抗体试剂盒的具体方法为:将心磷脂抗原包被微孔板、辣根过氧化物酶标记的抗人Ig单克隆抗体、显色液A、显色液B、浓缩洗涤液、反应终止液、阴性对照品、阳性对照品和外包装盒共同组成的梅毒螺旋体特异性心磷脂抗体试剂盒。

梅毒螺旋体特异性心磷脂抗体检测试剂盒及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及梅毒螺旋体,尤其是可获得梅毒螺旋体来源的心磷脂抗原,采用间接法分析模式进行的梅毒螺旋体特异性心磷脂抗体检测试剂盒及其制备方法。

背景技术

[0002] 梅毒是由梅毒螺旋体引起的性传播性疾病,近年来在国内的发病率逐年上升,梅毒的防控已列为我国公共卫生服务的主要任务之一。

[0003] 梅毒螺旋体尚不能在体外培养,而直接病原学,如暗视野显微镜检查和镀银染色阳性率不高。血清学实验是梅毒临床诊断和疗效监测的主要方法,实验包括非特异性抗体和特异性抗体检测,非特异性抗体(也称心磷脂抗体)主要包括性病研究试验室玻片实验(VDRL)、不加热血清反应素试验(USR)、快速血浆反应素环状卡片试验(RPR)和甲苯胺红不加热试验(TRUST)等。其原理基本相同,均采用牛的心磷脂为抗原,与卵磷脂和胆固醇按照一定的比例进行混合,组成抗原颗粒,当抗原颗粒与梅毒心磷脂抗体反应后出现凝集现象。的假阳性率高,灵敏度低(童曼莉,刘莉莉,林丽蓉,张惠林,杨天赐.梅毒实验诊断程序研究进展[J].中华检验医学杂志,2017,40(11))。

[0004] 目前检测梅毒心磷脂检测试剂采用的心磷脂抗原或从牛心磷脂提取,或采用化学合成,再辅于胆固醇和卵磷脂配成抗原液作为抗原(参见中国专利CN201410090394.4针对梅毒抗体的血清学方法和诊断测试)。其所采用的抗原为非梅毒螺旋体特异的心磷脂抗原,假阳性率极高(Fan Liu,Li-Li Liu,Xiao-Jing Guo,Ya Xi,Li-Rong Lin,Hui-Lin Zhang,Song-Jie Huang,Yu-Yan Chen,Ya-Feng Zhang,Qiao Zhang,Ge-Ling Huang,Man-Li Tong,Jie Jiang,Tian-Ci Yang.Characterization of the classical biological false-positive reaction in the serological test for syphilis in the modern era.International Immunopharmacology.2014;20:331-336)。

发明内容

[0005] 本发明的目的在于提供可减少假阳性,为梅毒的诊断和治疗提供可靠检测技术手段的梅毒螺旋体特异性心磷脂抗体检测试剂盒及其制备方法。

[0006] 所述梅毒螺旋体特异性心磷脂抗体检测试剂盒设有心磷脂抗原包被微孔板、辣根过氧化物酶(HRP)标记的抗人Ig单克隆抗体、显色液A、显色液B、浓缩洗涤液、反应终止液、阴性对照品、阳性对照品和外包装盒;所述浓缩洗涤液、阴性对照品、阳性对照品、辣根过氧化物酶(HRP)标记的抗人Ig单克隆抗体、显色液A、显色液B和反应终止液均装在相应的聚乙烯瓶中并与心磷脂抗原包被微孔板一起装在外包装盒内。

[0007] 所述梅毒螺旋体特异性心磷脂抗体检测试剂盒的制备方法包括以下步骤:

[0008] 1) 提取梅毒螺旋体外膜;

[0009] 在步骤1)中,所述提取梅毒螺旋体外膜的具体方法可为:用超声裂解器充分裂解梅毒螺旋体,8000r/min 4℃离心20min除去大的细菌碎片,100000g 4℃离心2h获得梅毒螺旋

旋体外膜。

[0010] 2) 提取梅毒螺旋体心磷脂抗原;

[0011] 在步骤2)中,所述提取梅毒螺旋体心磷脂抗原的具体方法可为:取梅毒螺旋体外膜4mg,加入氯仿1mL和甲醇0.5mL,充分振荡,并于37℃水浴20min,再加入1.5mL甲醇,振荡,500g离心5min,留取上清;向上清液中加入氯仿3mL,然后加入1.2mL溶液A,500g离心5min,溶液A分为2层,用吸管吸走上层溶液,然后沿管壁加入1.2mL溶液B,小心旋转,待分层后再将上层相吸走,重复2次;在微弱氮气流下将溶剂挥发,获得梅毒螺旋体心磷脂抗原;所述溶液A的组成可为1.80mmol/L CaCl_2 、1.79mmol/L MgCl_2 和49.57mmol/L NaCl ;所述溶液B的组成可为氯仿、甲醇和水,所述氯仿、甲醇和水的体积比可为3:48:47。

[0012] 3) 制备心磷脂抗原包被微孔板;

[0013] 在步骤3)中,所述制备心磷脂抗原包被微孔板的具体方法可为:将步骤2)得到的梅毒螺旋体心磷脂抗原以质量百分比浓度0.003%,每孔25 μL 加入微孔板中,4℃包被24h;取出心磷脂抗原包被微孔板,风干;100 μL 用pH7.4磷酸盐缓冲液配制的胎牛血清溶液,室温封闭1h,取出后用磷酸盐缓冲液洗涤5次,室温风干,制备心磷脂抗原包被微孔板,密封备用。

[0014] 4) 制备抗人Ig单克隆抗体;

[0015] 在步骤4)中,所述制备抗人Ig单克隆抗体的具体方法可为:以人Ig为抗原免疫Balb/c小鼠,通过杂交瘤技术,筛选获得稳定分泌抗人Ig单克隆抗体的杂交瘤细胞株,采用ELISA的方法鉴定McAb效价在 $1:10^7$ 以上。

[0016] 5) 制备辣根过氧化物酶(HRP)标记的抗人Ig单克隆抗体;

[0017] 在步骤5)中,所述辣根过氧化物酶(HRP)标记的抗人Ig单克隆抗体可采用过碘酸钠法进行辣根过氧化物酶(HRP)标记。

[0018] 6) 提供显色液A;

[0019] 在步骤6)中,所述显色液A可采用市售品,市售品可采用厦门波生生物科技有限公司生产的市售品。

[0020] 7) 提供显色液B;

[0021] 在步骤7)中,所述显色液B可采用市售品,市售品可采用厦门波生生物科技有限公司生产的市售品。

[0022] 8) 提供浓缩洗涤液;

[0023] 在步骤8)中,所述浓缩洗涤液可为溶有Tween-20的磷酸盐缓冲液,其中Tween-20的终浓度为0.05%,使用时用蒸馏水进行20倍稀释。

[0024] 9) 提供反应终止液;

[0025] 在步骤9)中,所述反应终止液可配制2mmol/L的硫酸作为反应终止液。

[0026] 10) 提供对照品;

[0027] 在步骤10)中,所述对照品包括阴性对照品和阳性对照品,所述阴性对照品可由非梅毒感染的健康人群血清配制而成,进行检测OD_{450nm}吸光值小于0.1;所述阳性对照品可由梅毒患者的阳性血清配制而成,进行检测OD_{450nm}吸光值大于0.5;所述OD_{450nm}为主波长,450nm是测定的样本显色吸光值。

[0028] 11) 制备梅毒螺旋体特异性心磷脂抗体试剂盒。

[0029] 在步骤11)中,所述制备梅毒螺旋体特异性心磷脂抗体试剂盒的具体方法可为:将心磷脂抗原包被微孔板、辣根过氧化物酶(HRP)标记的抗人Ig单克隆抗体、显色液A、显色液B、浓缩洗涤液、反应终止液、阴性对照品、阳性对照品和外包装盒共同组成的梅毒螺旋体特异性心磷脂抗体试剂盒。

[0030] 所述辣根过氧化物酶(HRP)标记的抗人Ig单克隆抗体、显色液A、显色液B、浓缩洗涤液、反应终止液、阴性对照品、阳性对照品均装在相应的聚乙烯瓶中并与心磷脂抗原包被微孔板一起装入外包装盒内。

[0031] 本发明采用间接法分析模式进行梅毒螺旋体特异性心磷脂抗体的检测。本发明可检测梅毒患者体内的梅毒螺旋体特异性心磷脂抗体,假阳性率低,操作简单。

[0032] 本发明从梅毒的致病体梅毒螺旋体提取抗原,避免了现有检测技术采用牛心磷脂抗原造成的交叉反应,减少假阳性,提高特异性,所制备的试剂操作简单。

附图说明

[0033] 图1为本发明所述梅毒螺旋体特异性心磷脂抗体试剂盒实施例的结构组成示意图。

具体实施方式

[0034] 以下实施例将结合附图对本发明作进一步的说明。

[0035] 实施例1

[0036] 参见图1,所述梅毒螺旋体特异性心磷脂抗体检测试剂盒实施例设有心磷脂抗原包被微孔板9、辣根过氧化物酶(HRP)标记的抗人Ig单克隆抗体5、显色液A6、显色液B 7、浓缩洗涤液2、反应终止液8、阴性对照品3、阳性对照品4和外包装盒1;所述浓缩洗涤液2、阴性对照品3、阳性对照品4、辣根过氧化物酶(HRP)标记的抗人Ig单克隆抗体5、显色液A6、显色液B 7和反应终止液8均装在相应的聚乙烯瓶中并与心磷脂抗原包被微孔板9一起装在外包装盒1内。

[0037] 所述梅毒螺旋体特异性心磷脂抗体检测试剂盒的制备方法包括以下步骤:

[0038] 1)提取梅毒螺旋体外膜

[0039] 用超声裂解器充分裂解梅毒螺旋体,8000r/min 4℃离心20min除去大的细菌碎片,100000g 4℃离心2h获得梅毒螺旋体外膜。

[0040] 2)提取梅毒螺旋体心磷脂抗原

[0041] 取梅毒螺旋体外膜4mg,加入氯仿1mL,甲醇0.5mL,充分振荡,并于37℃水浴20min。再加入1.5mL甲醇,振荡,500g离心5min,留取上清。向上清液中加入氯仿3mL,然后加入1.2mL溶液A(溶液A的成份为1.80mmol/L CaCl_2 、1.79mmol/L MgCl_2 和49.57mmol/L NaCl)。500g离心5min,溶液分为2层,用吸管吸走上层溶液,然后沿管壁缓慢加入1.2mL溶液B(所述溶液B的组成可为氯仿、甲醇和水,所述氯仿、甲醇和水的体积比可为3:48:47),小心旋转,待分层后再将上层相吸走,重复2次。在微弱氮气流下将溶剂挥发,获得梅毒螺旋体心磷脂抗原。

[0042] 3)制备心磷脂抗原包被微孔板

[0043] 将步骤(3)中的心磷脂抗原以浓度0.003% (wt/vol),每孔25μL加入微孔板中,4℃

包被24h;取出抗原板,风干;100 μ L用pH7.4磷酸盐缓冲液配制的胎牛血清溶液,室温封闭1h,取出用磷酸盐缓冲液洗涤5次,室温风干,制备心磷脂抗原包被微孔板,密封备用。

[0044] 4) 制备抗人Ig单克隆抗体

[0045] 以人Ig为抗原免疫Balb/c小鼠,通过杂交瘤技术,筛选获得稳定分泌抗人Ig单克隆抗体的杂交瘤细胞株。采用ELISA的方法鉴定McAb效价在 $1:10^7$ 以上。

[0046] 5) 抗人Ig单克隆抗体的辣根过氧化物酶(HRP) 标记

[0047] 采用过碘酸钠法进行辣根过氧化物酶(HRP) 标记。

[0048] 6) 显色液A为市售品;为厦门波生生物科技有限公司生产;

[0049] 7) 显色液B为市售品;为厦门波生生物科技有限公司生产;

[0050] 8) 浓缩洗涤液

[0051] 浓缩洗涤液为溶有Tween-20的磷酸盐缓冲液,其中Tween-20的终浓度为0.05%,使用时用蒸馏水进行20倍稀释。

[0052] 9) 反应终止液

[0053] 配制2mmol/L的硫酸作为反应终止液;

[0054] 10) 对照品

[0055] 阴性对照品:由非梅毒感染的健康人群血清配制而成,使用本试剂盒进行检测其OD450nm吸光值小于0.1;

[0056] 阳性对照品:梅毒患者的阳性血清配制而成,用本试剂盒进行检测其OD450nm吸光值大于0.5;

[0057] 所述的OD450nm为主波长,450nm是测定的样本显色吸光值;

[0058] 11) 制备梅毒螺旋体特异性心磷脂抗体试剂盒

[0059] 心磷脂抗原包被微孔板、辣根过氧化物酶(HRP) 标记的抗人Ig单克隆抗体、显色液A、显色液B、浓缩洗涤液、反应终止液、阴性对照品、阳性对照品和外包装盒共同组成的梅毒螺旋体特异性心磷脂抗体检测试剂盒;所述辣根过氧化物酶(HRP) 标记的抗人Ig单克隆抗体、显色液A、显色液B、浓缩洗涤液、反应终止液、阴性对照品和阳性对照品均装在相应的聚乙烯瓶中。

[0060] 实施例2

[0061] 以下给出采用梅毒螺旋体特异性心磷脂抗体检测试剂盒检测患者的临床标本中的梅毒螺旋体特异性心磷脂抗体:

[0062] 1) 标本处理:血清:静脉血5mL,置37 $^{\circ}$ C水浴30min,3000g离心10min,上清为检测样品备用。

[0063] 2) 加样:加100 μ L的标本于反应板中,同时作空白、阴性和阳性对照孔,37 $^{\circ}$ C孵育1h。

[0064] 3) 洗涤:37 $^{\circ}$ C反应30min后,被测定的梅毒螺旋体特异性心磷脂抗体与微孔板上包被的心磷脂抗原结合,洗涤分离未结合的游离成分。

[0065] 4) 加酶:在每孔中加辣根过氧化物酶(HRP) 标记的抗人Ig单克隆抗体各100 μ L,置37 $^{\circ}$ C孵育30min。

[0066] 5) 洗涤:用洗涤缓冲液洗五次后扣干。

[0067] 6) 显色:于每反应孔中依次加入底物A、底物B各50 μ L,置37 $^{\circ}$ C孵育15min。

[0068] 7) 测定:每孔中加入反应终止液50 μ L,然后在450nm处读取各孔的吸光度值。

[0069] 8) 结果判断:反应孔OD值/阴性对照孔OD值 <2.1 ,则该标本应视为梅毒螺旋体心磷脂抗体阴性,如果反应孔OD值/阴性对照孔OD值均 ≥ 2.1 ,可判断为梅毒螺旋体心磷脂抗体阳性。

[0070] 实施例3

[0071] 以下给出梅毒螺旋体特异性心磷脂抗体检测试剂盒的性能检定

[0072] (1) 阳性标本符合率

[0073] 用梅毒螺旋体心磷脂抗体阳性参比血清50份检定,计算阳性符合率。

[0074] (2) 阴性标本符合率

[0075] 用梅毒螺旋体心磷脂抗体阴性参比血清50份检定,计算阴性符合率。

[0076] (3) 批内差异

[0077] 同一批次试剂盒,用特征性血清检测,要求 $CV \leq 10\%$ 。

[0078] (4) 批间差异

[0079] 不同批次试剂盒,用特征性血清检测,要求 $CV \leq 12\%$ 。

[0080] (5) 干扰试验

[0081] 用溶血、脂血和黄疸标本各50例进行的干扰实验检测。

[0082] (6) 交叉反应

[0083] 采用本试剂盒,进行系统性红斑狼疮($n=50$)、类风湿病($n=50$)、免疫性肝炎($n=50$)等自身免疫系统疾病的检测,观察交叉反应。

[0084] (7) 稳定性检测

[0085] 应用Arrhenius法则,将试剂盒放置37 $^{\circ}$ C 20天后检测,以上各项指标无显著变化,确保成品在室温干燥条件下保存,有效期为18个月。

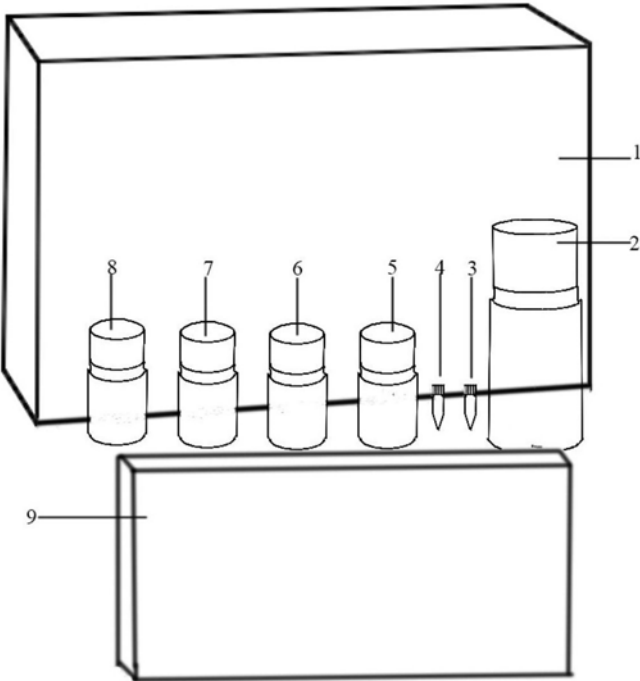


图1

专利名称(译)	梅毒螺旋体特异性心磷脂抗体检测试剂盒及其制备方法		
公开(公告)号	CN109212210A	公开(公告)日	2019-01-15
申请号	CN201811076257.X	申请日	2018-09-14
[标]申请(专利权)人(译)	厦门大学附属中山医院 厦门市波生生物技术有限公司		
申请(专利权)人(译)	厦门大学附属中山医院 厦门市波生生物技术有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	厦门大学附属中山医院 厦门市波生生物技术有限公司		
[标]发明人	林丽蓉 杨天赐 童曼莉 刘莉莉 林勇 朱晓桢 张长弓		
发明人	林丽蓉 杨天赐 童曼莉 刘莉莉 林勇 朱晓桢 张长弓		
IPC分类号	G01N33/571 G01N33/535 G01N33/92		
CPC分类号	G01N33/92 G01N33/535 G01N33/571 G01N2800/26 G01N2800/52		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

梅毒螺旋体特异性心磷脂抗体检测试剂盒及其制备方法，涉及梅毒螺旋体。梅毒螺旋体特异性心磷脂抗体检测试剂盒设有心磷脂抗原包被微孔板、辣根过氧化物酶标记的抗人Ig单克隆抗体、显色液A、显色液B、浓缩洗涤液、反应终止液、阴性对照品、阳性对照品和外包装盒。提取梅毒螺旋体外膜；提取梅毒螺旋体心磷脂抗原；制备心磷脂抗原包被微孔板；制备抗人Ig单克隆抗体；制备辣根过氧化物酶标记的抗人Ig单克隆抗体；提供显色液A、显色液B、浓缩洗涤液、反应终止液和对照品；制备梅毒螺旋体特异性心磷脂抗体试剂盒。可检测梅毒患者体内的梅毒螺旋体特异性心磷脂抗体，假阳性率低，操作简单。

