



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102128937 B

(45) 授权公告日 2014. 05. 28

(21) 申请号 201010615559. 7

CN 101109750 A, 2008. 01. 23, 权利要求

(22) 申请日 2010. 12. 31

1-3.

CN 1343221 A, 2002. 04. 03, 全文.

(73) 专利权人 江苏华冠生物技术股份有限公司

WO 2007045477 A2, 2007. 04. 26, 全文.

地址 225300 江苏省泰州市药城大道 1 号
G11 楼

WO 2010065929 A2, 2010. 06. 10, 全文.

(72) 发明人 陈琰 龚镇奎 龚睿 梁智慧

审查员 杨冀川

尹玉敏 祝戎飞 陈建军

(74) 专利代理机构 湖北武汉永嘉专利代理有限

公司 42102

代理人 崔友明

(51) Int. Cl.

G01N 33/68(2006. 01)

G01N 33/577(2006. 01)

G01N 33/543(2006. 01)

(56) 对比文件

CN 101256186 A, 2008. 09. 03, 权利要求

1-3.

权利要求书1页 说明书6页

(54) 发明名称

用于脱敏治疗效果评价的过敏原特异性 IgG4
抗体检测试剂盒的制备方法

(57) 摘要

本发明涉及一种用于脱敏治疗效果的评价监测方法及过敏原特异性 IgG4 的酶联免疫吸附分析检测试剂盒及其制备方法,在脱敏治疗结束后,通过检测血清内过敏原特异性 IgG4 抗体的含量,来判断所进行的脱敏治疗的疗效,当血清内过敏原特异性 IgG4 抗体上升显著,说明脱敏治疗效果显著,当血清内过敏原特异性 IgG4 抗体达到峰值后,说明脱敏治疗已经成功。本发明的有益效果在于:1、在患者通过脱敏治疗之后,提供了一种检测特异性 IgG4 抗体的方法,为脱敏治疗疗效提供了评价指标;2、具有灵敏度高、特异性好、使用快速方便的优点。

1. 过敏原特异性 IgG4 的酶联免疫吸附分析检测试剂用于制备脱敏治疗效果的评价监测方法的试剂盒的应用,通过检测血清内过敏原特异性 IgG4 抗体的含量,来判断所进行的脱敏治疗的疗效,当血清内过敏原特异性 IgG4 抗体上升显著,说明脱敏治疗效果显著,当血清内过敏原特异性 IgG4 抗体达到峰值后,说明脱敏治疗已经成功,所述的过敏原特异性 IgG4 的酶联免疫吸附分析检测试剂盒,包括有包被有致敏蛋白的酶标板、酶标抗体、底物显色液 A、底物显色液 B、样品稀释液、浓缩洗涤液和反应终止液;

所述的包被有致敏蛋白的酶标板为包被有屋尘螨的预包被板、包被有狗毛皮屑的预包被板、包被有猫毛皮屑的预包被板、包被有短豚草的预包被板、包被有艾蒿的预包被板、包被有鸡蛋白的预包被板或包被有牛奶的预包被板;所述的酶标抗体为辣根过氧化物酶标记的抗人 IgG4 单克隆抗体;所述的底物显色液 A 为 3,3',5,5' - 四甲基联苯胺;所述的底物显色液 B 为过氧化脲;所述的样品稀释液为含有牛血清白蛋白、细胞因子和 TWEEN-20 的溶液;所述的浓缩洗涤液为含有磷酸缓冲盐和 TWEEN-20 的溶液;

所述的过敏原特异性 IgG4 的酶联免疫吸附分析检测试剂盒的制备方法,包括有以下步骤:

1) 准备底物显色液 A、底物显色液 B、样品稀释液、浓缩洗涤液和反应终止液;

2) 包被有致敏蛋白的酶标板的制备:a) 致敏蛋白的制备:将过敏原蛋白粉末以 1:15-25 (w/v) 的量加入 0.03-3mol/l 的碳酸氢钠 - 氯化钠缓冲液,其中磁力搅拌器的转速 250 转 / 分钟,于 4°C 下过夜,取上清液 -20°C 下保存;b) 包被酶标板:①用包被液将各类致敏蛋白稀释成 0.05ug/ml-10ug/ml 的包被浓度,混匀得到稀释后的过敏原溶液,将酶标板上的每孔加入 100ul 稀释后的过敏原溶液;②将酶标板封膜后在 4°C 下反应过夜;③将酶标板内的稀释后的过敏原溶液倒出,洗板,酶标板的每孔加入 200ul 封闭液进行封闭,在 4°C 下反应过夜;④将酶标板内的封闭液倒出,拍干,真空干燥后密封入装有干燥剂的铝箔袋中,在 4°C 下贮存即可;

3) 酶标抗体的制备:所述的酶标抗体为辣根过氧化物酶标记的抗人 IgG4 单克隆抗体,其制备方法是:

a) 将单克隆细胞株注射到老鼠体内,产生腹水;

b) 收集腹水,提取并纯化得到单克隆抗体溶液;

c) 将单克隆抗体溶液用活化辣根过氧化物酶混合进行标记;

d) 透析过夜,得到辣根过氧化物酶标记的抗人 IgG4 单克隆抗体;所述的包被液为 pH9.0-9.8 的碳酸氢钠缓冲溶液,所述的封闭液为含有 1-10%(w/v) 的 BSA 的 Tris-Hcl 缓冲溶液。

用于脱敏治疗效果评价的过敏原特异性 IgG4 抗体检测试剂盒的制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种用于脱敏治疗效果的评价监测方法及过敏原特异性 IgG4 的酶联免疫吸附分析(ELISA)检测试剂盒及其制备方法。

[0002] 背景技术

[0003] 脱敏疗法(desensitization)又称为特异性免疫治疗(specific immunotherapy, SIT)或减敏疗法(hyposensitization)。1997年WHO根据多年来对特异性免疫治疗机制的了解和临床疗效,提出了新的术语即特异性变态反应疫苗治疗(specific allergy vaccination, SAV)。SAV是在临床上确定过敏性疾病患者的变应原后,将该变应原制成变应原提取液并配制成各种不同浓度的制剂,经反复注射或通过其它给药途径与患者反复接触,剂量由小到大,浓度由低到高,从而提高患者对该种变应原的耐受性,当再次接触此种变应原时,不再产生过敏现象或过敏现象得以减轻。

[0004] 但进行脱敏治疗后,往往对脱敏治疗效果没有进行科学的评价,无法判断脱敏治疗的效果。成功的免疫治疗通常伴随血清特异性 IgG4 抗体的显著上升。早在 1968 年,就有研究显示 SIT 诱导产生的 IgG 抗体的相关功能。过敏原阻断性 IgG 抗体水平的升高,尤其是 IgG4 亚型抗体水平的升高,在特异性免疫治疗(specific immunotherapy, SIT)过程中,发挥了重要的作用。对于免疫治疗诱发的 IgG 抗体亚型的分析显示 IgG1 和 IgG4 有显著升高,尤其是 IgG4。IgG4 抗体水平可增高 10 倍~100 倍。

[0005] IgG4 抗体被认为捕捉过敏原,阻止过敏原到达效应细胞与 IgE 的结合,从而阻止肥大细胞和嗜碱性粒细胞的活化,并释放颗粒内活性介质,引发 I 型超敏反应(Fc ϵ R I 途径)。并且能够通过阻断过敏原-IgE 复合物与低亲和性 IgE 受体的结合(Fc ϵ R II 途径),抑制过敏性疾病中炎症通路的活化和加剧。这些研究清楚的说明了 IgG4 抗体在免疫治疗中起到封闭抗体的作用。

[0006] 现在评价脱敏疗效的唯一公认指标是过敏原特异性 IgG4 抗体的含量检测。在接受特异性免疫治疗(specific immunotherapy, SIT)后,过敏原特异性 IgG4 抗体含量升高,且随脱敏剂量的增加,抗体含量上升,成为免疫治疗的疗效的评个指标。通过检测过敏原特异性 IgG4 抗体水平对脱敏治疗效果进行评价。

[0007] 酶联免疫吸附分析(ELISA)方法由于只需使用普通酶标仪,具有简单安全、经济快速的特点,适合我国多级医院进行脱敏治疗效果评价。

[0008] ELISA 法检测血清样本中过敏原特异性 IgG4 抗体(sIgG4)是利用固相载体固定的过敏原蛋白结合血清样本中的 sIgG4,洗去未结合的其他蛋白后加入酶标记的抗人 IgG4 抗体,与过敏原特异性 IgG4 抗体结合,形成过敏原-sIgG4-酶标抗体复合物,通过与酶底物显色液反应,检测结合的酶量,间接地检测出血清中的 sIgG4 种类及浓度。

发明内容

[0009] 本发明的目的在于提供一种用于脱敏治疗效果的评价监测方法,该评价方法在脱

敏治疗过程中,为医生提供客观的指标,用以调整患者的脱敏治疗剂量,为之前进行的脱敏治疗效果提供依据;在脱敏治疗疗程结束之后,为脱敏治疗效果提供了一个客观的数据指标,避免了仅凭借医生的经验对脱敏治疗效果进行评价的弊端。

[0010] 本发明的还有一个目的是针对上述监测方法提出一种灵敏度高、特异性好、使用快速方便的过敏原特异性 IgG4 的酶联免疫吸附分析检测试剂盒及其制备方法,通过检测血清中的 sIgG4 种类及浓度判断脱敏治疗疗效以及患者的耐受情况,具有灵敏度高、特异性好和使用快速方便的优点。

[0011] 本发明为解决上述提出的问题所采用的解决方案是:

[0012] 用于脱敏治疗效果的评价监测方法,其特征在于在脱敏治疗结束后,通过检测血清内过敏原特异性 IgG4 抗体的含量,来判断所进行的脱敏治疗的疗效,当血清内过敏原特异性 IgG4 抗体上升显著,说明脱敏治疗效果显著,当血清内过敏原特异性 IgG4 抗体达到峰值后,说明脱敏治疗已经成功。

[0013] 在脱敏治疗过程中,过敏原特异性 IgG4 抗体有一个明显的增加,成功的免疫治疗通常伴随血清特异性 IgG4 抗体的显著上升。当血清内过敏原特异性 IgG4 抗体显著升高后,说明脱敏治疗疗效明显。

[0014] 过敏原特异性 IgG4 的酶联免疫吸附分析检测试剂盒,其特征在于包括有包被有致敏蛋白的酶标板、酶标抗体、底物显色液 A、底物显色液 B、样品稀释液、浓缩洗涤液和反应终止液。

[0015] 按上述方案,所述的包被有致敏蛋白的酶标板为包被有屋尘螨的预包被板、包被有狗毛皮屑的预包被板、包被有猫毛皮屑的预包被板、包被有短豚草的预包被板、包被有艾蒿的预包被板、包被有鸡蛋蛋白的预包被板或包被有牛奶的预包被板。

[0016] 按上述方案,所述的酶标抗体为辣根过氧化物酶标记的抗人 IgG4 单克隆抗体。

[0017] 按上述方案,所述的底物显色液 A 为 3,3',5,5' - 四甲基联苯胺。

[0018] 按上述方案,所述的底物显色液 B 为过氧化脲。

[0019] 按上述方案,所述的样品稀释液为含有牛血清白蛋白(BSA)、细胞因子和 TWEEN-20 的溶液。

[0020] 按上述方案,所述的浓缩洗涤液为含有磷酸缓冲盐和 TWEEN-20 的溶液。

[0021] 按上述方案,所述的反应终止液为硫酸。

[0022] 本发明过敏原特异性 IgG4 的酶联免疫吸附分析检测试剂盒的制备方法,其特征在于主要包括有以下步骤:

[0023] 1) 准备底物显色液 A、底物显色液 B、样品稀释液、浓缩洗涤液和反应终止液;

[0024] 2) 包被有致敏蛋白的酶标板的制备:a) 致敏蛋白的制备:将过敏原蛋白粉末以 1:15-25 (w/v) 的量加入 0.03-3mol/l 的碳酸氢钠 - 氯化钠缓冲液(pH8.0-8.4),其中磁力搅拌器的转速 250 转/分钟,于 4℃ 下过夜,取上清液 -20℃ 下保存;b) 包被酶标板:①用包被液将各类致敏蛋白稀释成 0.05ug/ml-10ug/ml 的包被浓度,混匀得到稀释后的过敏原溶液,将酶标板上的每孔加入 100ul 稀释后的过敏原溶液;②将酶标板封膜后在 4℃ 下反应过夜;③将酶标板内的稀释后的过敏原溶液倒出,洗板,酶标板的每孔加入 200ul 封闭液进行封闭,在 4℃ 下反应过夜;④将酶标板内的封闭液倒出,拍干,真空干燥后密封入装有干燥剂的铝箔袋中,在 4℃ 下贮存即可;

[0025] 3) 酶标抗体的制备:所述的酶标抗体为辣根过氧化物酶标记的抗人 IgG4 单克隆抗体,其制备方法是:

[0026] a) 将单克隆细胞株注射到老鼠体内,产生腹水;

[0027] b) 收集腹水,提取并纯化得到单克隆抗体溶液;

[0028] c) 将单克隆抗体溶液用活化辣根过氧化物酶混合进行标记;

[0029] d) 透析过夜,得到辣根过氧化物酶标记的抗人 IgG4 单克隆抗体。

[0030] 按上述方案,所述的包被液为 pH9.0-9.8 的碳酸氢钠缓冲溶液,所述的封闭液为含有 1-10%(w/v) 的 BSA 的 Tris-HCl 缓冲溶液。

[0031] 本发明的使用方法,包括有以下步骤:

[0032] (1)平衡温度:使用前所有试剂及酶标板都应恢复到室温,试剂在使用前必须充分摇匀;

[0033] (2)洗涤液的准备:将浓缩洗涤液按照稀释倍数稀释;

[0034] (3)初次孵育:将实验所需的酶标板从包装内取出,编号或标记患者姓名,除空白每孔加入样品稀释液 2 滴(100ul)和血清 1ul,注意每加一份样品就更换一个管嘴,混匀后于 37°C 孵育 45min;

[0035] (4)洗板:倒尽酶标板中的液体,每孔加入 200ul ~ 300ul 洗涤液,静置 1min,倒尽液体,如此反复洗 5 次,轻轻晃动可以增强清洗效果;

[0036] (5)二次孵育:在每孔中加入 2 滴(100ul)酶标抗体,混匀后于 37°C 孵育 45min;

[0037] (6)洗板:同步骤(4);

[0038] (7)显色:每孔各加入一滴底物显色液 A,一滴底物显色液 B,混匀后于 37°C 孵育 15min;

[0039] (8)终止:每孔加入一滴反应终止液,测量每孔 OD 值(吸光度)。

[0040] 本发明的有益效果在于:

[0041] 1、在患者通过脱敏治疗之后,提供了一种检测特异性 IgG4 抗体的方法,为脱敏治疗疗效提供了评价指标;在脱敏治疗中,过敏原特异性 IgG4 抗体有一个明显的增加,成功的免疫治疗通常伴随血清特异性 IgG4 抗体的显著上升。当血清内过敏原特异性 IgG4 抗体达到峰值(平台期)后,说明脱敏治疗成功。通过检测人体内过敏原特异性 IgG4 抗体的含量,来判断所进行的脱敏治疗的疗效;

[0042] 2、具有灵敏度高、特异性好、使用快速方便的优点:

[0043] 灵敏度:检测灵敏度为 1ng/ml

[0044] 特异性:阴性符合率为 95.1%

[0045] 阳性符合率为 98.3%

[0046] 总符合率为 96.7%

[0047] 总检测时间不到 2 小时,操作步骤简便,能适应一般实验室检测。

具体实施方式

[0048] 下面结合实施例对本发明做进一步的说明,但是此说明不能构成对本发明的限制。

[0049] 实施例 1

[0050] 1) 准备底物显色液 A、底物显色液 B、样品稀释液、浓缩洗涤液和反应终止液；

[0051] 所述的底物显色液 A 为 3,3',5,5' - 四甲基联苯胺。

[0052] 所述的底物显色液 B 为过氧化脲。

[0053] 所述的样品稀释液为含有牛血清白蛋白(BSA)、细胞因子和 TWEEN-20 的溶液。

[0054] 所述的浓缩洗涤液为含有磷酸缓冲盐和 TWEEN-20 的溶液。

[0055] 所述的反应终止液为硫酸。

[0056] 2) 包被有致敏蛋白的酶标板的制备 :a) 致敏蛋白的制备 :将尘螨蛋白粉末以 1 : 15 (w/v) 的量加入 0.03mol/l 的碳酸氢钠 - 氯化钠缓冲液 (pH8.0-8.4), 其中磁力搅拌器的转速 250 转 / 分钟, 于 4℃ 下过夜, 取上清液 -20℃ 下保存 ;b) 包被酶标板 :①用包被液将各类致敏蛋白稀释成 0.05ug/ml 的包被浓度, 混匀得到稀释后的过敏原溶液, 将酶标板上的每孔加入 100u1 稀释后的过敏原溶液 ;②将酶标板封膜后在 4℃ 下反应过夜 ;③将酶标板内的稀释后的过敏原溶液倒出, 洗板, 酶标板的每孔加入 200u1 封闭液进行封闭, 在 4℃ 下反应过夜 ;④将酶标板内的封闭液倒出, 拍干, 真空干燥后密封入装有干燥剂的铝箔袋中, 在 4℃ 下贮存即可 ;所述的包被液为 pH9.0-9.8 的碳酸氢钠缓冲溶液, 所述的封闭液为含有 1-10%(w/v) 的 BSA 的 Tris-Hcl 缓冲溶液 ;

[0057] 3) 酶标抗体的制备 :所述的酶标抗体为辣根过氧化物酶标记的抗人 IgG4 单克隆抗体, 其制备方法是 :

[0058] a) 将单克隆细胞株注射到老鼠体内, 产生腹水 ;

[0059] b) 收集腹水, 提取并纯化得到单克隆抗体溶液 ;

[0060] c) 将单克隆抗体溶液用活化辣根过氧化物酶混合进行标记 ;

[0061] d) 透析过夜, 得到辣根过氧化物酶标记的抗人 IgG4 单克隆抗体。

[0062] 实施例 2

[0063] 1) 准备底物显色液 A、底物显色液 B、样品稀释液、浓缩洗涤液和反应终止液；

[0064] 所述的底物显色液 A 为 3,3',5,5' - 四甲基联苯胺。

[0065] 所述的底物显色液 B 为过氧化脲。

[0066] 所述的样品稀释液为含有牛血清白蛋白(BSA)、细胞因子和 TWEEN-20 的溶液。

[0067] 所述的浓缩洗涤液为含有磷酸缓冲盐和 TWEEN-20 的溶液。

[0068] 所述的反应终止液为硫酸。

[0069] 2) 包被有致敏蛋白的酶标板的制备 :a) 致敏蛋白的制备 :将狗毛皮屑蛋白粉末以 1 : 20 (w/v) 的量加入 1.5mol/l 的碳酸氢钠 - 氯化钠缓冲液 (pH8.0-8.4), 其中磁力搅拌器的转速 250 转 / 分钟, 于 4℃ 下过夜, 取上清液 -20℃ 下保存 ;b) 包被酶标板 :①用包被液将各类致敏蛋白稀释成 5ug/ml 的包被浓度, 混匀得到稀释后的过敏原溶液, 将酶标板上的每孔加入 100u1 稀释后的过敏原溶液 ;②将酶标板封膜后在 4℃ 下反应过夜 ;③将酶标板内的稀释后的过敏原溶液倒出, 洗板, 酶标板的每孔加入 200u1 封闭液进行封闭, 在 4℃ 下反应过夜 ;④将酶标板内的封闭液倒出, 拍干, 真空干燥后密封入装有干燥剂的铝箔袋中, 在 4℃ 下贮存即可 ;所述的包被液为 pH9.0-9.8 的碳酸氢钠缓冲溶液, 所述的封闭液为含有 1-10%(w/v) 的 BSA 的 Tris-Hcl 缓冲溶液 ;

[0070] 3) 酶标抗体的制备 :所述的酶标抗体为辣根过氧化物酶标记的抗人 IgG4 单克隆抗体, 其制备方法是 :

- [0071] a) 将单克隆细胞株注射到老鼠体内,产生腹水;
- [0072] b) 收集腹水,提取并纯化得到单克隆抗体溶液;
- [0073] c) 将单克隆抗体溶液用活化辣根过氧化物酶混合进行标记;
- [0074] d) 透析过夜,得到辣根过氧化物酶标记的抗人 IgG4 单克隆抗体。
- [0075] 实施例 3
- [0076] 1) 准备底物显色液 A、底物显色液 B、样品稀释液、浓缩洗涤液和反应终止液;
- [0077] 所述的底物显色液 A 为 3,3',5,5' - 四甲基联苯胺。
- [0078] 所述的底物显色液 B 为过氧化脲。
- [0079] 所述的样品稀释液为含有牛血清白蛋白(BSA)、细胞因子和 TWEEN-20 的溶液。
- [0080] 所述的浓缩洗涤液为含有磷酸缓冲盐和 TWEEN-20 的溶液。
- [0081] 所述的反应终止液为硫酸。
- [0082] 2) 包被有致敏蛋白的酶标板的制备 :a) 致敏蛋白的制备 :将艾蒿蛋白粉末以 1 : 25(w/v)的量加入 3mol/l 的碳酸氢钠 - 氯化钠缓冲液 (pH8.0-8.4),其中磁力搅拌器的转速 250 转 / 分钟,于 4℃ 下过夜,取上清液 -20℃ 下保存 ;b) 包被酶标板 :①用包被液将各类致敏蛋白稀释成 10ug/ml 的包被浓度,混匀得到稀释后的过敏原溶液,将酶标板上的每孔加入 100ul 稀释后的过敏原溶液 ;②将酶标板封膜后在 4℃ 下反应过夜 ;③将酶标板内的稀释后的过敏原溶液倒出,洗板,酶标板的每孔加入 200ul 封闭液进行封闭,在 4℃ 下反应过夜 ;④将酶标板内的封闭液倒出,拍干,真空干燥后密封入装有干燥剂的铝箔袋中,在 4℃ 下贮存即可 ;所述的包被液为 pH9.0-9.8 的碳酸氢钠缓冲溶液,所述的封闭液为含有 1-10%(w/v) 的 BSA 的 Tris-HCl 缓冲溶液 ;
- [0083] 3) 酶标抗体的制备 :所述的酶标抗体为辣根过氧化物酶标记的抗人 IgG4 单克隆抗体,其制备方法是 :
- [0084] a) 将单克隆细胞株注射到老鼠体内,产生腹水 ;
- [0085] b) 收集腹水,提取并纯化得到单克隆抗体溶液 ;
- [0086] c) 将单克隆抗体溶液用活化辣根过氧化物酶混合进行标记 ;
- [0087] d) 透析过夜,得到辣根过氧化物酶标记的抗人 IgG4 单克隆抗体。
- [0088] 实施例 1 过敏原特异性 IgG4 抗体 ELISA 检测试剂盒的使用方法 :
- [0089] (1)平衡温度 :使用前所有试剂及酶标板都应恢复到室温,试剂在使用前必须充分混匀 ;
- [0090] (2)洗涤液的准备 :将洗涤液按照稀释倍数稀释 ;
- [0091] (3)初次孵育 :将实验所需的酶标板从包装内取出,编号或标记患者姓名,除空白每孔加入样品稀释液 2 滴 (100ul) 和血清 1ul,注意每加一份样品就更更换一个管嘴,混匀后于 37℃ 孵育 45 分钟 ;
- [0092] (4)洗板 :倒尽酶标板中的液体,每孔加入 200ul ~ 300ul 洗涤液,静置 1min,倒尽液体,如此反复洗 5 次,轻轻晃动可以增强清洗效果 ;
- [0093] (5)二次孵育 :在每孔中加入 1 滴 (50ul)HRP 标记的抗人 IgG4 抗体,混匀后于 37℃ 孵育 45 分钟 ;
- [0094] (6)洗板 :同步骤(4) ;
- [0095] (7)显色 :每孔各加入一滴底物显色液 A,一滴底物显色液 B,混匀后于 37℃ 孵育

15min；

[0096] (8)终止：每孔加入一滴终止液，测量每孔 OD 值(吸光度)。

[0097] 测定得到不同的 OD 值：

血清样本号	1	2	3	4	5	6
脱敏前尘螨特异性 IgG4 检测 OD 值	0.220	0.147	0.245	0.146	0.154	0.039
脱敏前尘螨特异性 IgG4 抗体浓度 (mg/L)	0.293	0.196	0.326	0.194	0.205	0.052
脱敏后尘螨特异性 IgG4 检测 OD 值	3.161	3.157	3.009	2.112	2.013	1.163
脱敏后尘螨特异性 IgG4 抗体浓度 (mg/L)	4.204	4.199	4.002	2.809	2.677	1.547
血清样本号	7	8	9	10	11	12
脱敏前尘螨特异性 IgG4 检测 OD 值	0.275	0.332	0.190	0.120	0.074	0.295
脱敏前尘螨特异性 IgG4 抗体浓度 (mg/L)	0.366	0.442	0.253	0.200	0.098	0.392
脱敏后尘螨特异性 IgG4 检测 OD 值	3.388	2.824	2.761	2.639	1.961	3.391
脱敏后尘螨特异性 IgG4 抗体浓度 (m/L)	4.506	3.756	3.672	3.510	2.608	4.510

[0098] 采用实施例 1 的试剂盒进行 IgG4 抗体的检测，得出上表数据。上表数据说明：

[0099] 选取 12 份脱敏治疗临床效果显著，脱敏治疗成功患者的血清，进行脱敏前后尘螨特异性 IgG4 抗体的检测，对于 12 份尘螨过敏患者血清，接受脱敏治疗之后，血清中尘螨特异性 IgG4 抗体浓度显著增加，说明使用本发明的试剂盒可简便、快速、准确地检测出样本中的尘螨特异性 IgG4 抗体含量。而且，尘螨特异性 IgG4 抗体含量可以作为免疫治疗过程中疗效的指标。