丁香通 丁香园

论坛 上海延慕实业有限公司

金牌会员

丁香客

医药招聘

入驻年限:6年

丁香医生 文献求助

手机商铺

输入产品名、CAS号查询

搜本店

我的丁香通 🔻

我要登录 | 免费注册

搜全站

在线沟通

我的询价

移动端

全部产品

商铺首页

企业认证

公司信息

公司新闻

更多。

技术资料

## 上海延慕实业有限公司

入驻年限:6年

联系人:安桐

所在地区: 上海 浦东新区 业务范围: 试剂、原辅料包材... 经营模式:生产厂商 经销商 ...

在线沟通

电话

QQ 联系

## 推荐产品



假单胞杆菌分离琼脂 Ps... 品牌: BD

询价 询价

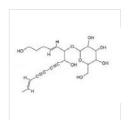


Masson三色染色试剂盒

品牌: fanke

询价

询价



党参炔苷 品牌: fanke

询价 询价



肿瘤坏死因子α(TNF-α)E...

品牌: fanke

828

咨询

公司新闻/正文

## 导致 ELISA 测定结果出错的元凶你知道吗?

131 人阅读 发布时间: 2018-08-20 16:46

ELISA 即酶联免疫吸附试验,是一种常用的固相酶免疫测定方法。Engvall 和 Perlmann 于 1971 年最先应用该法进行了 IgG 定量测 定,并命名为"enzyme linked immunosorbent assay (ELISA)"。 ELISA 的基本原理是:

①使抗原(或抗体)结合到某种固相载体表面,并保持其免疫活性;

②使抗原(或抗体)与某种酶联结成酶标抗原(或抗体),而且此酶标抗原(或抗体)既保留其免疫活性,又保留其酶活性;

③ 载体表测定时将受检标本(抗体或抗原)和酶标抗原(或抗体)按不同步骤与固相面的抗原或抗体进行反应,再用洗涤方法使固相 载体上形成的抗原抗体复合物与其 它物质分开,最后结合在固相载体上的酶量与标本中受检的抗体或抗原量成一定比例;再加入酶反 应底物后,底物被酶催化后变为有色产物,根据其颜色反应的深浅 进行定性或定量分析,以了解被测标本中抗体或抗原含量。

ELISA 方法被广泛应用于各种抗原和抗体测定。但 ELISA 测定中影响因素较多,而且其操作中有一定的技术要求,在临床检验中除正 常反应外,有时常可见到一些错误结果(即假阳性或假阴性结果)。引起 ELISA 测定错误结果的原因主要有:

①标本因素;

②试剂因素;

③操作因素。

本文就标本因素对 ELISA 测定的影响做如下讨论。

血清是最常用的 ELISA 标本,血浆一般可视为与血清同等的标本,标本引起的假阳性和假阴性结果主要是干扰性物质所致,分为内源 性物质和外源性物质两种:

1. 内源性物质

有人认为大约 40% 的人血清标本中含有非特异性干扰物质,可以不同程度影响检测结果。常见的干扰物质有:类风湿因子、补体、嗜 异性抗体、嗜靶抗原自身抗体、医源性诱导的抗鼠 Ig (s) 抗体、交叉反应物质和其它物质等。

(1) 类风湿因子

人血清中 IgM、IgG 型类风湿因子(RF)可以与 ELISA 系统中的捕获抗体及酶标记二抗的 FC 段直接结合,从而导致假阳性。

解决该情况的办法有:

①用 F(ab)2 替代完整的 IgG;

②标本用联有热变性 (63℃, 10 min) IgG 的固相吸附剂处理 (将热变性 IgG 加入到标本稀释液中同样有效); ③检测抗原时,可以 用 2-巯基yi醇等加入到标本稀释液中, 使 RF 降解。

(2) 补体 ELISA 系统中固相一抗和标记二抗过程中,抗体分子发生变构,其 FC 段的补体 C1q 分子结合位点被暴露出来,使 C1q 可

- 京原平台(A-MO F

L-亮氨酸价格61-90-5 品牌: fanke

询价

查看全部产品

询价

以将二者连接起来,从而造成假阳性。解决的办法是:①用 EDTA 稀释标本;②用 53℃,10 min 或 56℃,30 min 加热血清使 C1q 灭活。

- (3) 嗜异性抗体 人类血清中含有能与啮齿类动物(如鼠等)lg (s) 结合的天然嗜异性抗体,可将 ELISA 系统中一抗和二抗连接起来,也能造成假阳性。解决的办法是:可在标本稀释液中加入过量的动物 lg (s) ,但加入量不足或亚类不同时无效。
- (4) 嗜靶抗原的自身抗体 抗甲状腺球蛋白、抗胰岛素等嗜靶抗原的自身抗体,有时能与靶抗原结合形成复合物,在 ELISA 方法中均可干扰抗原抗体测定结果。为避免以上情况出现,解决的办法是:测定前需用理化方法将其解离后再测定。
- (5) 医源性诱导的抗鼠 Ig (s) 抗体 临床开展的用鼠源性 CD3 等单克隆抗体治疗,用放射性同位素标记鼠源性抗体的影像诊断及靶向治疗等新技术,均有可能使这些病人体内产生抗鼠抗体;另外,被 鼠等啮齿类动物咬伤的病人体内也可以产生抗鼠 Ig (s) 抗体。这些病人 ELISA 测定时均可产生假阳性。解决的办法是:测定抗原时,在标本中加入足量的正常鼠 Ig (s),从而克服由于上述原因造成的假阳性。
- (6) 交叉反应物质 类di高辛、类 AFP 样物质等,是与靶抗原有交叉反应的物质。在用多抗测定抗原时对测定结果影响不大,但在用单克降抗体测定抗原时,如果交叉抗原决定簇正好是所用单克降抗体相对应的靶决定簇时,也会出现假阳性结果。
- (7) 标本中其它成分的影响 血清脂质过高、胆红素、血红蛋白及血液粘度过大等,均对 ELISA 测定结果有干扰作用。

## 2. 外源性物质

外源性物质常常是由于用于 ELISA 测定的血标本的采集、贮存等不当所致。如标本溶血、标本被细菌污染、标本贮存过久、标本凝集不全和采血管中添加物等影响。

- (1) 标本溶血 由于各种人为原因引起的标本溶血,均可因红细胞破坏溶解时释放出大量具有过氧化物酶活性的血红蛋白,在以辣根过氧化物酶为标记的 ELISA 测定中,会导致非特异性显色,干扰测定结果。为克服上述干扰作用,标本采集时必须注意避免溶血。
- (2) 标本受细菌污染 因菌体中可能含有内源性辣根过氧化物酶,因此,被细菌污染的标本同溶血标本一样,亦可产生非特异性 <sub>在线沟通</sub> 干扰测定结果。

我的询价

- (3) 标本保存不当 在冰箱中保存过久的标本,血清中 IgG 可聚合成多聚体、AFP 可形成二聚体,在间接法 ELISA 测定中会导致本底过深、甚至造成假阳性;标本放置时间过长(如一天以上),有时抗原或抗体免疫活性减弱,亦可出现假阴性。为克服上述干扰, ELISA 测定的血清标本宜为新鲜采集;如不能立即测定,5 天内测定的血 清标本可存放于 4℃,1 周后测定的血清标本应低温冻存;冻存后融解的标本,蛋白质局部浓缩,分布不均,应充分混合后再测定,但混匀时应轻柔,不可强烈振 荡。
- (4) 标本凝集不全 在没有促凝剂和抗凝剂存在的情况下,正常血液采集后 1/2~2 h 开始凝固,18~24 h 完全凝固。临床检验工作中,有时为了争取时间快速检测,常在血液还 未开始凝固时即强行离心分离血清,此时的血清中仍残留部分纤维蛋白原,在 ELISA 测定过程中可以形成肉眼可见的纤维蛋白块,易造成假阳性结果;这类情况 于次日复查时因血凝已完全,血清中不再有纤维蛋白原存在,故复查结果变为阴性。为避免上述干扰作用,解决的办法最好是血液标本采集后必须使其充分凝固后再 分离血清,或标本采集时用带分离胶的采血管或于采血管中加入适当的促凝剂。
- (5) 标本管中添加物质的影响 抗凝剂 (如肝素,EDTA) 、酶抑制剂 (如 NaN3 可抑制 ELISA 系统中辣根过氧化物酶活性)及快速分离血清的分离胶等均对 ELISA 测定有一定干扰作 用。 综上所述,对临床检验 ELISA 测定中出现的假阳性或假阴性结果,在考虑试剂因素和操作因素之外,更多的应从标本因素方面进行分析,并应采取相应措施排除 干扰作用,从而为临床提供正确可靠的检测结果。

上一篇

下一篇

干扰素(IFN)的主要作用有哪些吗?

樊克浅谈:慢病毒使用时的常见问题

浙B2-20070219(含BBS) 互联网药品信息服务资格证书: (浙)-经营性-2018-0056 | 浙公网安备 33010802004206号 | 出版物经营许可证: 新出发滨字第0064号

网络文化经营许可证:浙网文 [2018]11330-875 号 | 食品许可证编号:JY13301080010985 | 人力资源许可证编号:330101000525

第二类医疗器械经营备案凭证编号:浙杭食药监械经营备20153170号 | 医疗器械网络销售备案表:(浙杭)网械企备字[2018]第 00246 号 Copyright © 2000-2019 DXY All Rights Reserved. | 本网站用字经北大方正电子有限公司授权许可

公司名称:杭州联科美讯生物医药技术有限公司 | 地址:杭州市滨江区江虹路611号上峰电商产业园3号楼3楼 | 电话: 0571-28229157 彭女士: 15068855686



在线沟通

我的询价