

# ELISA 联合检测方法的建立及应用\*

曾海清<sup>1</sup>, 王利娟<sup>2#</sup>, 张国军<sup>2△</sup> (1. 首都医科大学附属复兴医院检验科, 北京 100038; 2. 首都医科大学附属北京天坛医院实验诊断中心/北京市免疫试剂临床工程技术研究中心 100050)

**【摘要】 目的** 在微孔板平台上建立多指标联合检测的方法, 为急诊、门诊及基层等多种医疗机构提供 1 种新的血清学检测手段。**方法** 本研究根据酶联免疫吸附法(ELISA 法)原理, 以卵泡刺激素(FSH)、泌乳素(PRL)、黄体生成素(LH)、生长激素(GH)为检测靶标, 在自行设计的聚苯乙烯板孔上完成反应体系的优化, 包括 FSH、PRL、LH、GH 包被抗体浓度及酶标抗体浓度, 建立 1 种并行分析样品中多种指标的方法。**结果** 成功确定 4 种垂体激素联合检测的条件, 包括 4 种激素抗体包被浓度、酶标抗体浓度等, 并成功应用于临床样本的检测。**结论** 本研究首次建立了 1 种简单、特异性高、成本低、并行分析 4 种垂体激素的联合检测方法, 提高了常规 ELISA 法的检测效率。

**【关键词】** 酶联免疫吸附法; 多指标联合检测; 垂体激素

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2016.09.011 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2016)09-1179-05

**Establishment and preliminary application of ELISA joint detection\*** ZENG Hai-qing<sup>1</sup>, WANG Li-juan<sup>2#</sup>, ZHANG Guo-jun<sup>2△</sup> (1. Department of Laboratory, Fuxing Hospital, Capital Medical University, Beijing 100038, China; 2. Laboratory Diagnosis Center of Beijing Tiantan Hospital, Capital Medical University/Engineering Research Center of Immunological Reagents Clinical Research, Beijing 100050, China)

**【Abstract】 Objective** Multi-index method of establishing joint detection on a microplate platform to provide a new measure of serological tests for the emergency room, outpatient and primary and other medical institutions. **Methods** This study was based on the principle of ELISA with FSH, PRL, LH and GH for the detection of target to complete the optimization of the reaction system in polystyrene plate hole own design, including FSH, PRL, LH, GH coated antibody concentration and enzyme labeled antibody concentration, and establish a method for simultaneous analysis of multiple indicators in a sample. **Results** The conditions of four kinds of pituitary hormones combined detection has been determined successfully, including that four kinds of hormone antibody peridium concentration, enzyme labeled antibody concentration, and detection and successfully applied in clinical samples. **Conclusion** This study is the first to establish a simple, high specificity, low cost, parallel analysis of the combined pituitary four detection methods to improve the detection of conventional ELISA method efficiently.

**【Key words】** enzyme-linked immunosorbent assay; combined detection of multiple targets; hypophyseal hormones

目前, 医疗卫生单位中很多项目的检测根据抗原与抗体特异性结合的原理进行, 具有高特异性、高灵敏度的优点<sup>[1]</sup>, 因此, 免疫分析方法成为 1 种强有力的普适性分析工具, 广泛应用于临床体液分析、药物分析、环境分析等方面<sup>[2]</sup>。其中, 在各大医疗机构中最常用的 2 种方法分别是酶联免疫吸附法(ELISA 法)和化学发光法。ELISA 是 1 种常用的固相酶免疫测定方法<sup>[3]</sup>。由于 ELISA 法灵敏度高、特异性强, 不需要特殊设备, 所以被广泛应用于各种抗原和抗体测定<sup>[4]</sup>。然而, ELISA 法或化学发光法主要针对单一指标进行检测, 且医疗单位需收集足够多的样本才能测定, 患者等候时间长; 若患者需要检测多个项目, 不仅等待时间更长, 而且价格相当昂贵。对于临床样本量少、需要尽早提供结果的检测项目, ELISA 法的临床应用受到一定的限制。垂体腺瘤为中枢神经系统常见肿瘤<sup>[5]</sup>, 发现率正在逐渐升高。垂体腺瘤根据其分泌的激素不同分为垂体无激素腺瘤; 单激素腺瘤, 如生长激素(GH)腺瘤、泌

乳素(PRL)腺瘤、促肾上腺皮质激素(ACTH)腺瘤、黄体生成素(LH)腺瘤等; 多激素腺瘤, 如垂体 GH 和 PRL 腺瘤等<sup>[6]</sup>。卵巢恶性肿瘤是女性生殖器常见的三大恶性肿瘤之一<sup>[7-8]</sup>。研究发现, 绝经前后妇女体内循环血中卵泡促激素(FSH)和 LH 浓度升高可能与卵巢肿瘤的发生危险性增加有关<sup>[9-10]</sup>。因此, 血清中多种激素的测定对于筛查及辅助诊断垂体腺瘤、卵巢肿瘤必不可少。根据临床实际情况, 该病多数起病缓慢、隐匿, 常不能引起患者的重视, 需要 1 种对于垂体腺瘤早期筛查更加方便、快捷的检测手段。本研究利用 ELISA 法多指标联合检测平台, 对垂体腺瘤 4 种激素(FSH、GH、PRL、LH)联合检测的条件进行优化并利用临床样本进行初步验证。

## 1 材料与方法

**1.1 一般资料** 多指标检测装置, 见图 1。多指标检测装置由首都医科大学附属北京天坛医院实验诊断中心张国军、康熙雄教授的研究团队研发。该装置可以通过 1 次加样, 将样品加

\* 基金项目: 北京市卫生系统高层次卫生技术人才培养计划项目(2013-3-052); 首都医科大学本科生创新项目(xsky2013111)。

作者简介: 曾海清, 女, 主管检验师, 本科, 主要从事临床生物化学检验及其方法学研究。 # 共同第一作者。 △ 通讯作者, E-mail: tiantanzg@163.com。

入到检测槽中,并对样品的多项指标进行检测,操作方便、快捷,缩短检测时间,提高检测效率,已获得国家实用新型专利。

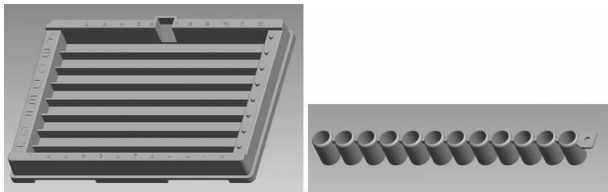


图 1 多指标检测装置

**1.2 仪器与试剂** 电子天平购于上海柏辰生物科技有限公司;孵育箱购于北京医疗设备厂;酶标仪购于 Thermo 公司。FSH 抗体、PRL 抗体、LH 抗体、GH 抗体购于安迪生物科技有限公司;HRP-FSH 抗体、HRP-PRL 抗体、HRP-GH 抗体、HRP-LH 抗体购于安迪生物科技有限公司;FSH 标准品购于 Calbiochem 公司,PRL 标准品购于 Scripps 公司,LH 标准品购于 Scripps 公司,GH 标准品购于成都正龙生物科技有限公司;牛血清清蛋白(BSA)购于北京欣经科生物技术公司;试验用水均为超纯去离子水。

1.3 方法

**1.3.1 原理** 见图 2、3。基于 ELISA 双抗体夹心法,可在多指标检测装置的板孔上,包被需要检测的不同项目抗体,最终可以通过 1 次加样,将样品加入到检测槽中,并对样品的多项指标进行同时检测。在临床检验过程中,还可根据临床需要随机进行项目的组合检测。

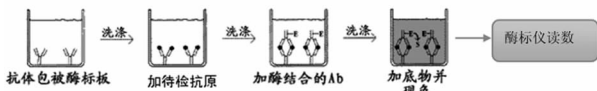


图 2 检测原理:ELISA 双抗体夹心法



图 3 多指标检测装置的试验设计示意图

**1.3.2 试验步骤** (1)包被:用 PBS 液将垂体激素单克隆抗体稀释至所需浓度,包被在其聚苯乙烯板孔上,每孔加 100  $\mu$ L,37  $^{\circ}$ C 孵育 2 h,弃去孔内溶液,用 PBS 液洗板 3 次,每次 3 min,最后在吸水纸上拍干即可;(2)封闭:每孔加 3%BSA 液 100  $\mu$ L,37  $^{\circ}$ C 孵育 1 h,弃去孔内溶液,最后在吸水纸上拍干;(3)加抗原:每孔加一定浓度的抗原 100  $\mu$ L(同时作空白对照,3%BSA 液 100  $\mu$ L),37  $^{\circ}$ C 孵育 1 h;(4)洗板:温育后,将反应液倒出,然后在板孔中加 PBS 液,放置 2~3 min 后,将洗液吸出或甩干,再在吸水纸上拍干,重复上述洗涤步骤 3~4 次,最后在吸水纸上拍干即可;(5)加酶标抗体:每孔加酶标抗体 100  $\mu$ L,37  $^{\circ}$ C 孵育 1 h,弃去孔内溶液,用 PBS 液洗板 3 次,每次 3 min,最后在吸水纸上拍干即可;(6)显色:以四甲基联苯胺(TMB)为底物,室温避光反应 15 min;(7)终止:显色反应完成后,加入盐酸终止反应,振荡混匀后即可;(8)结果判读:用波长

为 450 nm 的酶标仪读数。

1.3.3 反应体系的优化

**1.3.3.1 包被抗体浓度的选择** (1)FSH 包被抗体的确定:将 FSH 包被抗体稀释成浓度为 0.5、1、10、50、100  $\mu$ g/mL 等 5 个浓度,各取 100  $\mu$ L 加入到聚苯乙烯板孔中,封闭清洗甩干后加入含有 FSH 抗原浓度分别为 100、50、25、12.5、6.25、3.1、1.5 U/L 的溶液反应,反应条件为 37  $^{\circ}$ C、1 h,清洗甩干,再加入 1:1 200 稀释的 HRP-FSH 抗体反应,条件同上,清洗甩干后每孔加入 100  $\mu$ L TMB 显色剂避光反应,15 min 后每孔加盐酸终止液,混匀,用波长为 450 nm 的酶标仪读数;(2)PRL 包被抗体的确定:将 PRL 包被抗体稀释成浓度为 0.1、0.5、1、5、10、50  $\mu$ g/mL 等 6 个浓度,各取 100  $\mu$ L 加入到聚苯乙烯板孔中,封闭清洗甩干后加入含有 PRL 抗原浓度分别为 100、50、25、12.5、6.25、3.1、1.5  $\mu$ g/L 的溶液进行反应,反应条件为 37  $^{\circ}$ C、1 h,清洗甩干,再加入 1:2 000 稀释的 HRP-PRL 抗体反应,其余同上;(3)LH 包被抗体的确定:将 LH 包被抗体稀释成浓度为 0.01、0.1、1、10、100  $\mu$ g/mL 等 5 个浓度,各取 100  $\mu$ L 加入到聚苯乙烯板孔中,封闭清洗甩干后加入含有 LH 抗原浓度分别为 100、50、25、12.5、6.25、3.1、1.5 U/L 的溶液进行反应,反应条件为 37  $^{\circ}$ C、1 h,清洗甩干,再加入 1:2 000 稀释的 HRP-LH 抗体反应,其余同上;(4)GH 包被抗体的确定:将 GH 包被抗体稀释成浓度为 0.1、1、5、10、50  $\mu$ g/mL 等 5 个浓度,各取 100  $\mu$ L 加入到聚苯乙烯板孔中,封闭清洗甩干后加入含有 GH 抗原浓度分别为 20、10、5、2.5、1.25、0.6、0.3  $\mu$ g/L 的溶液进行反应,反应条件为 37  $^{\circ}$ C、1 h,清洗甩干,再加入 1:2 000 稀释的 HRP-GH 抗体反应,其余同上。

**1.3.3.2 酶标抗体稀释比例的优化** (1)HRP-FSH 抗体最适浓度的测定:包被抗体选择 1.3.3.1 中(1)所得出的最适浓度进行。反应时,在不同的板孔表面分别加入稀释倍数为 1:2 500、1:5 000、1:10 000、1:15 000、1:20 000 的 HRP-FSH 抗体进行反应,同时保持其余条件不变。分析最终结果,选择最适 HRP-FSH 抗体浓度;(2)HRP-PRL 抗体最适浓度的测定:包被抗体选择 1.3.3.1 中(2)所得出的最适浓度进行。反应时,在不同的板孔表面分别加入稀释倍数为 1:5 000、1:10 000、1:20 000、1:30 000 的 HRP-PRL 抗体进行反应,同时保持其余条件不变,分析最终结果,选择最适 HRP-PRL 抗体浓度;(3)HRP-LH 抗体最适浓度的测定:包被抗体选择 1.3.3.1 中(3)所得出的最适浓度进行。反应时,在不同的板孔表面分别加入稀释倍数为 1:10 000、1:20 000、1:30 000、1:40 000 的 HRP-LH 抗体进行反应,同时保持其余条件不变,分析最终结果,选择最适 HRP-LH 抗体浓度;(4)HRP-GH 抗体最适浓度的测定:包被抗体选择 1.3.3.1 中(4)所得出的最适浓度进行。反应时,在不同的板孔表面分别加入稀释倍数为 1:5 000、1:10 000、1:20 000、1:30 000 的 HRP-GH 抗体进行反应,同时保持其余条件不变,分析最终结果,选择最适 HRP-GH 抗体浓度。

**1.3.3.3 标准点的选取及曲线拟合** 包被抗体选择 1.3.3.1 所得出的最适浓度进行。将 4 种激素的酶标抗体按一定比例混合,混合后的浓度为 1.3.3.2 所得出的最适浓度,根据各指标已知的 7 个标准点的抗原浓度与吸光度进行曲线拟合。

**1.3.3.4 临床样本测定** 采用上述优化后的条件,笔者进行了临床样品检测。包被抗体选择 1.3.3.1 所得出的最适浓度进行。将 4 种激素的酶标抗体按一定比例混合,混合后的浓度

为 1.3.3.2 所得出的最适浓度,其余条件保持不变,同时对 3 个临床样本进行检测。

2 结 果

2.1 包被抗体浓度的确定

2.1.1 FSH 包被抗体浓度的确定 见表 1。10 μg/mL 为最佳包被浓度。当 FSH 包被抗体为 0.5~10 μg/mL 时吸光度呈逐渐上升趋势,并在 10 μg/mL 时达到最高值,随后吸光度值不会有明显升高,考虑实际消耗和临床免疫分析需要,因此,选择 10 μg/mL 这个浓度为 FSH 包被抗体的最佳浓度。

2.1.2 PRL 包被抗体浓度的确定 见表 2。5 μg/mL 为最佳包被浓度。当 PRL 包被抗体浓度为 0.1~5 μg/mL 时吸光度呈逐渐上升趋势,并在 5 μg/mL 时达到最高值,随后吸光度值不会有明显升高,考虑实际消耗和临床免疫分析需要,因此,选择 5 μg/mL 这个浓度为 PRL 包被抗体的最佳浓度。

2.1.3 LH 包被抗体浓度的确定 见表 3。10 μg/mL 为最佳

包被浓度。当 LH 包被抗体浓度为 0.01~10 μg/mL 时吸光度呈逐渐上升趋势,并在 10 μg/mL 时达到最高值,随后吸光度值不会有明显升高,考虑实际消耗和临床免疫分析需要,因此,选择 10 μg/mL 这个浓度为 LH 包被抗体的最佳浓度。

2.1.4 GH 包被抗体浓度的确定 见表 4。5 μg/mL 为最佳包被浓度。当 GH 包被抗体浓度为 0.1~50 μg/mL 时吸光度呈逐渐上升趋势,并在 5 μg/mL 时达到最高值,随后吸光度值不会有明显升高,考虑实际消耗和临床免疫分析需要,因此,选择 5 μg/mL 这个浓度为 GH 包被抗体的最佳浓度。

2.2 酶标抗体浓度确定试验

2.2.1 HRP-FSH 抗体最适浓度的确定 见表 5。HRP-FSH 抗体在稀释倍数为 1:15 000 时效果最佳。

2.2.2 HRP-PRL 抗体最适浓度的确定 见表 6。HRP-PRL 抗体在稀释倍数为 1:20 000 时效果最佳。

表 1 不同 FSH 包被抗体浓度下的吸光度

| FSH-Ag(U/L) | 0.5 μg/mL | 1 μg/mL | 10 μg/mL | 50 μg/mL | 100 μg/mL |
|-------------|-----------|---------|----------|----------|-----------|
| 100         | 0.092     | 0.443   | 0.677    | 0.738    | 0.963     |
| 50          | 0.047     | 0.419   | 0.426    | 0.393    | 0.300     |
| 25          | 0.028     | 0.208   | 0.260    | 0.324    | 0.229     |
| 12.5        | 0.024     | 0.104   | 0.159    | 0.172    | 0.221     |
| 6.25        | 0.016     | 0.066   | 0.081    | 0.115    | 0.145     |
| 3.1         | 0.016     | 0.068   | 0.060    | 0.086    | 0.091     |
| 1.5         | 0.018     | 0.037   | 0.060    | 0.043    | 0.056     |
| 0           | 0.011     | 0.027   | 0.017    | 0.037    | 0.031     |

表 2 不同 PRL 包被抗体浓度下的吸光度

| PRL-Ag(μg/L) | 0.1 μg/mL | 0.5 μg/mL | 1 μg/mL | 5 μg/mL | 10 μg/mL | 50 μg/mL |
|--------------|-----------|-----------|---------|---------|----------|----------|
| 100          | 0.045     | 0.091     | 0.460   | 2.058   | 2.515    | 2.076    |
| 50           | 0.025     | 0.099     | 0.739   | 2.057   | 1.987    | 2.019    |
| 25           | 0.038     | 0.394     | 0.170   | 1.013   | 1.604    | 2.220    |
| 12.5         | 0.026     | 0.048     | 0.183   | 1.137   | 1.119    | 1.857    |
| 6.25         | 0.015     | 0.055     | 0.098   | 0.660   | 0.847    | 0.723    |
| 3.1          | 0.016     | 0.023     | 0.046   | 0.186   | 0.375    | 0.493    |
| 1.5          | 0.012     | 0.030     | 0.045   | 0.096   | 0.207    | 0.196    |
| 0            | 0.012     | 0.054     | 0.023   | 0.048   | 0.009    | 0.012    |

表 3 不同 LH 包被抗体浓度下的吸光度

| LH-Ag(U/L) | 0.01 μg/mL | 0.1 μg/mL | 1 μg/mL | 10 μg/mL | 100 μg/mL |
|------------|------------|-----------|---------|----------|-----------|
| 100        | 0.854      | 0.634     | 1.377   | 1.626    | 1.740     |
| 50         | 0.634      | 0.814     | 1.295   | 1.627    | 1.604     |
| 25         | 0.094      | 0.309     | 0.904   | 0.969    | 1.062     |
| 12.5       | 0.189      | 0.436     | 0.659   | 0.698    | 0.604     |
| 6.25       | 0.062      | 0.123     | 0.437   | 0.493    | 0.423     |
| 3.1        | 0.034      | 0.109     | 0.236   | 0.279    | 0.329     |
| 1.5        | 0.089      | 0.067     | 0.163   | 0.138    | 0.192     |
| 0          | 0.013      | 0.010     | 0.014   | 0.016    | 0.032     |

表 4 不同 GH 包被抗体浓度下的吸光度

| GH-Ag 浓度(μg/L) | 0.1 μg/mL | 1 μg/mL | 5 μg/mL | 10 μg/mL | 50 μg/mL |
|----------------|-----------|---------|---------|----------|----------|
| 20             | 0.021     | 0.085   | 2.335   | 1.624    | 2.116    |
| 10             | 0.022     | 1.453   | 2.062   | 1.809    | 2.514    |
| 5              | 0.018     | 0.751   | 1.802   | 1.469    | 1.986    |
| 2.5            | 0.021     | 0.282   | 1.411   | 1.402    | 1.960    |
| 1.25           | 0.019     | 0.216   | 1.257   | 1.469    | 2.153    |
| 0.6            | 0.028     | 0.158   | 0.716   | 1.181    | 2.268    |
| 0.3            | 0.083     | 0.097   | 0.414   | 0.955    | 1.729    |
| 0              | 0.042     | 0.022   | 0.067   | 0.024    | 0.031    |

表 5 HRP-FSH 不同抗体稀释倍数下的分析结果

| FSH-Ag (U/L) | 1 : 2 500 | 1 : 5 000 | 1 : 10 000 | 1 : 15 000 | 1 : 20 000 |
|--------------|-----------|-----------|------------|------------|------------|
| 100          | 0.879     | 0.670     | 0.605      | 0.585      | 0.333      |
| 50           | 0.646     | 0.562     | 0.377      | 0.363      | 0.240      |
| 25           | 0.379     | 0.313     | 0.233      | 0.190      | 0.130      |
| 12.5         | 0.170     | 0.174     | 0.111      | 0.103      | 0.066      |
| 6.25         | 0.093     | 0.119     | 0.091      | 0.070      | 0.034      |
| 3.1          | 0.048     | 0.062     | 0.049      | 0.051      | 0.043      |
| 1.5          | 0.044     | 0.034     | 0.030      | 0.037      | 0.021      |
| 0            | 0.037     | 0.032     | 0.030      | 0.014      | 0.015      |

表 6 HRP-PRL 抗体不同稀释倍数下的分析结果

| PRL-Ag (μg/L) | 1 : 5 000 | 1 : 10 000 | 1 : 20 000 | 1 : 30 000 |
|---------------|-----------|------------|------------|------------|
| 100           | 0.763     | 0.650      | 0.611      | 0.483      |
| 50            | 0.576     | 0.546      | 0.396      | 0.344      |
| 25            | 0.459     | 0.325      | 0.212      | 0.170      |
| 12.5          | 0.129     | 0.166      | 0.105      | 0.106      |
| 6.25          | 0.107     | 0.123      | 0.073      | 0.108      |
| 3.1           | 0.076     | 0.071      | 0.047      | 0.071      |
| 1.5           | 0.033     | 0.044      | 0.031      | 0.021      |
| 0             | 0.031     | 0.025      | 0.021      | 0.013      |

表 7 HRP-LH 抗体不同稀释倍数下的分析结果

| LH-Ag(U/L) | 1 : 10 000 | 1 : 20 000 | 1 : 30 000 | 1 : 40 000 |
|------------|------------|------------|------------|------------|
| 100        | 1.921      | 2.120      | 1.612      | 0.385      |
| 50         | 1.264      | 1.462      | 1.354      | 0.366      |
| 25         | 0.932      | 1.113      | 0.994      | 0.286      |
| 12.5       | 0.943      | 0.974      | 0.741      | 0.166      |
| 6.25       | 0.443      | 0.549      | 0.421      | 0.063      |
| 3.1        | 0.423      | 0.342      | 0.259      | 0.056      |
| 1.5        | 0.072      | 0.124      | 0.070      | 0.047      |
| 0          | 0.042      | 0.032      | 0.030      | 0.021      |

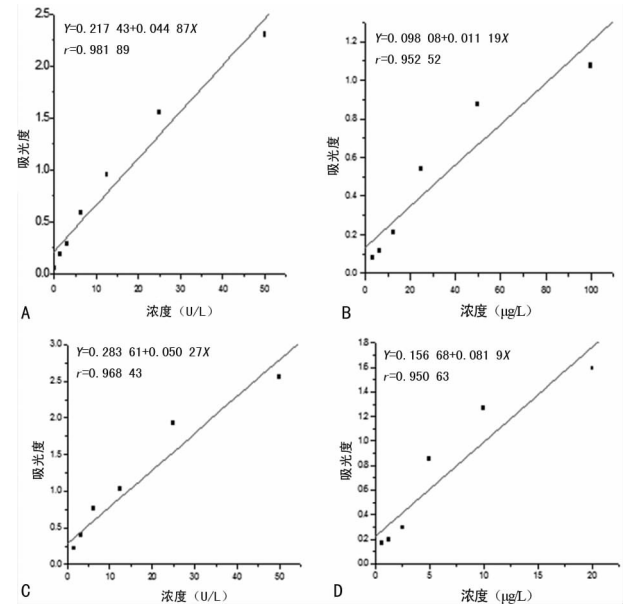
2.2.3 HRP-LH 抗体最适浓度的确定 见表 7。HRP-LH 抗体在稀释倍数为 1 : 30 000 时效果最佳。

2.2.4 HRP-GH 抗体最适浓度的确定 见表 8。HRP-GH 抗体在稀释倍数为 1 : 10 000 时效果最佳。

表 8 HRP-GH 抗体不同稀释倍数下的分析结果

| GH-Ag (μg/L) | 1 : 5 000 | 1 : 10 000 | 1 : 20 000 | 1 : 30 000 |
|--------------|-----------|------------|------------|------------|
| 20           | 2.245     | 2.247      | 1.604      | 0.385      |
| 10           | 2.246     | 2.062      | 1.367      | 0.153      |
| 5            | 1.879     | 1.813      | 1.245      | 0.110      |
| 2.5          | 0.760     | 0.544      | 0.711      | 0.102      |
| 1.25         | 0.453     | 0.219      | 0.991      | 0.076      |
| 0.6          | 0.098     | 0.086      | 0.049      | 0.055      |
| 0.3          | 0.066     | 0.044      | 0.030      | 0.033      |
| 0            | 0.041     | 0.022      | 0.020      | 0.017      |

2.3 标准点的选取及曲线拟合 对 FSH、PRL、LH、GH 这 4 项指标的标准曲线进行拟合,见图 4。



A:FSH 的标准曲线;B:PRL 的标准曲线;C:LH 的标准曲线;D: GH 的标准曲线。

图 4 对 4 项指标的标准曲线进行拟合

2.4 临床样本检测 第 1 次结果与第 2 次结果的比较中可看 表 9。  
出本研究重复性良好,浓度值由图 4 的标准曲线计算得出。见

表 9 临床样本吸光度和浓度的测试结果

| 组别           | FSH   |         | PRL   |         | LH    |         | GH    |         |
|--------------|-------|---------|-------|---------|-------|---------|-------|---------|
|              | 吸光度   | 浓度(U/L) | 吸光度   | 浓度(U/L) | 吸光度   | 浓度(U/L) | 吸光度   | 浓度(U/L) |
| 样本 1 第 1 次结果 | 0.237 | 0.44    | 0.759 | 59.06   | 0.905 | 12.36   | 0.176 | 0.02    |
| 样本 1 第 2 次结果 | 0.224 | 0.15    | 0.590 | 43.96   | 0.725 | 8.78    | 0.163 | 0.08    |
| 样本 2 第 1 次结果 | 1.659 | 32.13   | 0.201 | 9.20    | 0.284 | 0.01    | 0.165 | 0.10    |
| 样本 2 第 2 次结果 | 1.049 | 18.53   | 0.187 | 7.95    | 0.291 | 0.15    | 0.181 | 0.30    |
| 样本 3 第 1 次结果 | 1.369 | 25.66   | 0.119 | 1.87    | 1.568 | 25.55   | 0.510 | 4.31    |
| 样本 3 第 2 次结果 | 1.083 | 19.29   | 0.136 | 3.39    | 1.544 | 25.07   | 0.357 | 2.45    |

3 讨 论

传统 ELISA 法每项指标只能单独检测,比较耗时,加样步骤也比较繁琐。本研究在自主知识产权(国家发明实用新型专利)基础上建立 1 种基于 ELISA 法多指标联合检测的平台,并对这种平台的各种检测条件进行优化。该联合检测方法能够同一时间检测多项指标,只需一次性同时加样,便能检测出样本中的多项指标,大大缩短检测所需时间,并且特异性高、重现性好,可同时测定大量样品,检测速度快,能够满足急诊、门诊、基层等多种医疗机构需要,具有较好的临床应用价值。

参考文献

[1] Lavers CJ,Dohoo IR,Mckenna SLB,et al. Sensitivity and specificity of repeated test results from a commercial milk enzyme-linked immunosorbent assay for detection of Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis in dairy cattle[J]. Journal of the American Veterinary Medical Association,2015,246(2):236-244.

[2] 伏旭,李培武,贺莉,等. 酶联免疫吸附检测法的应用研究进展[J]. 氨基酸和生物资源,2012(3):41-44.

[3] 郭彤丽. ELISA 检测的影响因素的分析[J]. 实用医技杂志,2007,14(27):3748.

[4] 宋炳荣,杜彩霞,崔娜,等. ELISA 一步法检测乙型肝炎病毒标志物影响因素的实验研究[J]. 实用医技杂志,2004,

11(9):1836-1838.

[5] Grizzi F,Borroni EM,Vacchini A,et al. Pituitary adenoma and the chemokine Network: a systemic view[J]. Frontiers in Endocrinology,2015,6:141.

[6] 张玉林. 脑瘤的病理[J]. 中国计算机成像杂志,2000,6(4):232-236.

[7] 高珊,张雪玉. 卵泡刺激素、黄体生成素与上皮性卵巢癌关系的研究进展[J]. 宁夏医学杂志,2011,33(7):668-669.

[8] Choi JH,Wong AS,Huang HF,et al. Gonadotropins and ovarian cancer[J]. Endocrine Reviews,2007,28(4):440-461.

[9] Lenhard M,Lennerova T,Ditsch N,et al. Opposed roles of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone receptors in ovarian cancer survival[J]. Histopathology,2011,58(6):990-994.

[10] Parrott JA,Doraiswamy V,Kim G,et al. Expression and actions of both the follicle stimulating hormone receptor and the luteinizing hormone receptor in normal ovarian surface epithelium and ovarian cancer[J]. Molecular and Cellular Endocrinology,2001,172(1/2):213-222.

(收稿日期:2015-11-20 修回日期:2016-01-20)

(上接第 1178 页)

in Health and Disease,2011(10):170-172.

[7] Persson M,Hedblad B,Nelson JJ,et al. Elevated Lp-PLA2 levels add prognostic information to the metabolic syndrome on incidence of cardiovascular events among middle-aged nondiabetic subjects [J]. Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology,2007,27(6):1411-1416.

[8] Mannheim D,Herrmann J,Versari D,et al. Enhanced expression of Lp-PLA2 and lysophosphatidylcholine in symptomatic carotid atherosclerotic plaques[J]. Stroke,

2008,39(5):1448-1455.

[9] 吴倩,胡为民. Lp-PLA2 与动脉粥样硬化性脑卒中及颈动脉粥样硬化斑块的关系探讨[J]. 中西医结合心脑血管病杂志,2013,11(10):1216-1217.

[10] Garg PK,McClelland RL,Jenny NS,et al. Association of lipoprotein-associated phospholipase A2 and endothelial function in the multi-ethnic study of atherosclerosis(MESA)[J]. Vascular Medicine,2011,16:247-252.

(收稿日期:2015-11-08 修回日期:2016-01-04)