

• 论 著 •

# ELISA 法检测抗-HIV 结果影响因素的研究

梁其隆, 陈龙菊, 甘芳香

(广东省茂名市中心血站质量管理科 525000)

**摘要:**目的 探讨标本中溶血、脂血、血液保存液对抗-HIV ELISA 法检测结果的影响。方法 采用模拟对照实验,用溶血、脂血、血液保存液和小牛血清分别对抗-HIV 阳性质控血清进行系列梯度稀释,用 ELISA 法检测,观察溶血、脂血、血液保存液对检测结果的影响。结果 含有血液保存液的抗-HIV 阳性质控血清的检测结果均明显低于小牛血清对照组( $P < 0.01$ ),且在 60% 稀释度内,随血液保存液浓度逐步增加,降幅有加大趋势;而溶血、脂血对抗-HIV 阳性质控血清的检测结果影响差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。结论 血液保存液对 ELISA 法检测抗-HIV 结果影响明显;而溶血、脂血对抗-HIV ELISA 法检测结果无影响。

**关键词:** HIV 抗体; 酶联免疫吸附测定; 血液保存液; 影响

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2011.10.014

**文献标识码:**A

**文章编号:**1673-4130(2011)10-1050-02

## Investigation of the factors influencing the ELISA detection of anti-HIV

Liang Qilong, Chen Longju, Gan Fangxiang

(Department of Quality Management, Central Blood Station of Maoming City, Guangdong 525000, China)

**Abstract:** **Objective** To investigate the influence of hemolysis, fat and blood preservation solution on the results of the ELISA detection of anti-HIV. **Methods** Quality control serum, positive with anti-HIV, were diluted serially with hemolytic plasma, plasma with fat, blood preservation solution and calf serum, respectively, then the serial dilutions were detected for anti-HIV by ELISA. Then the influence of the factors, mentioned above, was observed. **Results** The detection result of quality control serum, diluted with blood preservation solution, was significantly lower than that of quality control serum, diluted with calf serum ( $P < 0.01$ ), and within the dilute strength of 60%, decreasing degree of the detection result gradually increased with the increase of the concentration of blood preservation solution. There was no statistical difference of the influence between hemolysis and fat on the detection result of ( $P > 0.05$ ). **Conclusion** The blood preservation solution significantly influence the ELISA detection of anti-HIV, but hemolysis and fat have no influence.

**Key words:** HIV antibodies; enzyme-linked immunosorbent assay; blood preservation solution; influence

目前,采用酶联免疫吸附法(ELISA 法)检测人类免疫缺陷病毒(HIV)抗体是血站进行 HIV 筛查的普遍方法,其灵敏度和特异性已得到证明,但其影响因素也不少,包括人员、试剂、仪器、时间等因素<sup>[1-3]</sup>。如何保证 ELISA 法检测抗-HIV 结果的准确性,是关系到用血安全的重大问题。本文针对标本内源性因素,包括溶血、脂血、血液保存液对抗-HIV ELISA 法检测结果的影响进行对比实验,并将结果报道如下。

### 1 材料与方 法

**1.1 材料** 抗-HIV 阳性质控血清(北京康彻思坦生物技术有限公司,批号:200905002,浓度:4 NCU/mL);新生小牛血清(广州蕊特生物技术有限公司,批号:200807170);血液保存液 II、III(广州费森尤斯卡比医疗用品有限公司,批号为:85CG13AA、85CM26AA);溶血(经免疫印迹法确认阴性的血液,人为制造溶血,血红蛋白浓度:10 g/L);重度脂血(经免疫印迹法确认阴性的脂血,脂肪指数:6)。

**1.2 仪器及试剂** 人类 HIV 抗原抗体诊断试剂盒(法国 Bio-Rad 公司,批号:9L0133),340Rt 酶标仪(奥地利 Anthos 公司),PW-812 自动洗板机(深圳汇松科技发展有限公司),Fi-

nnpipette 可调移液器(上海雷勃分析仪器有限公司),HH-W420 恒温水箱(江苏金坛医疗仪器厂)。

**1.3 方法** 混合多支 4 NCU/mL 抗-HIV 质控血清,用小牛血清、溶血、脂血、血液保存液 II、III 分别将其按 10% 梯度稀释,配成 5 个系列组浓度,使抗-HIV 浓度分别为 3.6、3.2、2.8、2.4、2.0、1.6、1.2、0.8 和 0.4 NCU/mL。按试剂盒说明书采用 ELISA 法对以上标本稀释 10 次,每个标本每次做双孔检测,取其吸光度与临界值比值(S/CO)平均值。分别取血液保存液 II、III 的 S/CO 均值与小牛血清比较,计算各组 S/CO 均值变化量。

**1.4 统计学处理** 检测结果用酶标仪读板的 S/CO( $\bar{x} \pm s$ )表示,以小牛血清作为对照组;其他各实验组检测结果与对照组比较,用配对资料 *t* 检验统计。

### 2 结 果

**2.1 各组检测 S/CO 均值变化,见表 1。**

**2.2 抗-HIV 质控血清在血液保存液 II、III 不同梯度稀释后 S/CO 均值变化情况,见表 2。**

表 1 抗-HIV 质控血清经不同稀释液梯度稀释后 S/CO 均值比较(NCU/mL)

组别	3.6	3.2	2.8	2.4	2.0	1.6	1.2	0.8	0.4
小牛血清	2.64±0.17	2.34±0.19	2.09±0.16	1.81±0.16	1.52±0.14	1.28±0.13	0.92±0.11	0.74±0.09	0.55±0.08
溶血*	2.59±0.19	2.32±0.17	2.12±0.16	1.86±0.16	1.50±0.18	1.24±0.14	0.98±0.11	0.78±0.10	0.56±0.08

续表 1 抗-HIV 质控血清经不同稀释液梯度稀释后 S/CO 均值比较(NCU/mL)

组别	3.6	3.2	2.8	2.4	2.0	1.6	1.2	0.8	0.4
脂血 <sup>#</sup>	2.52±0.20	2.37±0.22	1.98±0.20	1.78±0.18	1.47±0.13	1.33±0.14	1.02±0.14	0.74±0.10	0.48±0.08
保存液 II <sup>△</sup>	2.44±0.19	2.08±0.15	1.76±0.11	1.45±0.13	1.19±0.09	0.95±0.09	0.79±0.08	0.66±0.09	0.52±0.08
保存液 III <sup>△△</sup>	2.56±0.15	2.15±0.17	1.88±0.15	1.61±0.11	1.35±0.11	1.10±0.12	0.86±0.10	0.67±0.10	0.49±0.06

\*:  $P > 0.05, t = 0.844$ ; #:  $P > 0.05, t = 0.901$ ; △:  $P < 0.01, t = 5.551$ ; △△:  $P < 0.01, t = 6.182$ , 与小牛血清组比较。

表 2 抗-HIV 质控血清在血液保存液不同稀释度下 S/CO 均值变化情况(NCU/mL)

组别	稀释度									
	10%	20%	30%	40%	50%	60%	70%	80%	90%	
保存液 II	-7.6	-11.1	-15.8	-19.9	-21.7	-21.1	-14.1	-10.8	-5.5	
保存液 III	-3.0	-8.1	-10.0	-11.0	-11.2	-14.1	-6.5	-9.5	-10.9	

### 3 讨论

表 1 结果显示,溶血标本和脂血标本对抗-HIV 检测结果没有影响,这与相关报道相一致<sup>[4]</sup>。也有分析认为,溶血或脂血标本易造成 ELISA 法检测结果假阴性,可能与不同厂家试剂抗干扰能力不同有关<sup>[5-7]</sup>。试剂说明书也指出,高达 36 g/L 的三酰甘油标本和 10 g/L 的溶血标本均不影响检测结果。表 1 结果也提示,标本中混入血液保存液能明显降低试剂对抗-HIV 检出能力,甚至出现漏检。相关研究表明,血液保存液对 ELISA 法检测结果有影响<sup>[8-9]</sup>。通过表 2 对比发现,两种血液保存液对抗-HIV 检测的 S/CO 值变化影响趋势相似,当保存液混入量在 60% 以内,即没有超过试剂的检出限,随保存液混入量增加,S/CO 值降低更加明显。

影响 ELISA 法检测结果的因素较多,包括来自标本的内源性因素,如抗凝剂、pH 值、离子强度和稀释作用等均可对检测结果产生影响<sup>[10-11]</sup>。血液保存液的主要成分是枸橼酸、枸橼酸钠、葡萄糖等。孙立平<sup>[12]</sup>报道,以枸橼酸-枸橼酸钠作为抗凝剂的标本对抗-HIV ELISA 检测结果无影响,在本实验中,血液保存液影响检测结果可能不是枸橼酸-枸橼酸钠成分。由于血液保存液 II、III 的 pH 值分别为 5.0 和 5.5,当血液保存液混入标本时,可引起标本 pH 值、离子强度等变化。随着标本中混入保存液含量不断增加,标本 pH 值会逐步降低。表 2 显示,S/CO 值降幅不断加大,同时也体现出较低 pH 值的保存液 II 比保存液 III 对降低 S/CO 值更加明显,结果提示,标本 pH 值可能是影响结果的原因之一。

目前,血站使用的 200 mL 血袋中,保存液 II、III 配方含保存液分别为 50、28 mL,以健康人血浆含量(50%~63%)中间值 56% 计算,采血后血浆含保存液比例分别约 30% 和 20%,对照表 2,在此两种稀释度比例的不同保存液下,相应的 S/CO 值降低 15.8% 和 8.1%。若将标本中保存液稀释作用加以对比,则可能会将实际 S/CO 值降至更低,这对检测结果影响将更为显著。

大多数血站对初次检测有反应性标本进一步复检时,采用抗凝试管血和采血导管血同时进行复检,易造成检测结果不一致,甚至漏检。因此,作者认为应从以下几个方面加以改进:完善标本留样确认程序,确保标本与血袋同源性,复检时避免从

血袋导管取标本;检测含有血液保存液的血袋导管标本时,将抗-HIV 的临界值相应调低;血袋厂家研制新血袋,附带留样试管,将最初采集没有保存液的血液用于检测;开展灵敏度更高和抗干扰能力更强的核酸检测<sup>[13]</sup>。

### 参考文献

- [1] 张帅清. 影响双抗原夹心 ELISA 法检测 HIV 抗体因素研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2008, 18(2): 343-346.
- [2] 刘佃香, 刘丙现. ELISA 检测抗-HIV 影响因素分析[J]. 牡丹江医学院学报, 2008, 29(4): 80-81.
- [3] 罗雯斌. 探讨 ELISA 法检测 HIV 抗体的影响因素[J]. 检验医学与临床, 2010, 7(20): 2252-2253.
- [4] 陆亭屹, 徐萍. HIV 抗体 ELISA 测定中影响因素探讨[J]. 实用医技杂志, 2008, 15(26): 3542-3543.
- [5] 葛君珊, 王丽娜. 影响 ELISA 法检测乙型肝炎病毒血清标志物的因素[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(3): 289-290.
- [6] 殷勤. 溶血对抗-HIV 测定结果的影响[J]. 实用医技杂志, 2004, 11(10): 2142-2143.
- [7] 刘运保. 乳糜血液对 ELISA 检测结果的影响[J]. 临床输血与检验, 2007, 9(3): 226-228.
- [8] 黎艳华, 郭如华, 温丽玲, 等. CPD 血液保养液对抗-HIV ELISA 实验结果的影响[J]. 实用医学杂志, 2008, 24(19): 3415-3416.
- [9] 张根仓, 张明霞, 赵黎娟, 等. 血液保养液与肝素抗凝剂对 HBsAg ELISA 检测结果的影响[J]. 临床输血与检验, 2010, 12(4): 318-320.
- [10] 柯靖兰, 赵志坚, 郑意, 等. 抗凝剂对检测抗-HIV 结果的影响[J]. 临床血液学杂志, 2009, 22(2): 88-89.
- [11] 刑培清, 刘玉振. 实用输血检验[M]. 郑州: 郑州大学出版社, 2001: 69.
- [12] 孙立平. 两种抗凝剂对血液 4 项指标 ELISA 检测结果干扰的分析[J]. 中国输血杂志, 2006, 19(4): 290-292.
- [13] 欧阳玲, 黄建国, 谢秀华, 等. 核酸检测技术在深圳地区献血者血液病毒筛查中的应用[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(7): 764-765.

(收稿日期: 2011-01-07)