DOI:10.16016/j.1000-5404.1983.03.015

技术和方法

酶联免疫吸附法用聚苯乙烯板的再生方法

田 荣 福

（卫生防疫系 流行病学教研室）

摘 要

本文报导了酶联免疫吸附法（ELISA）用聚苯乙烯板的再生原理和方法。用清洁液浸泡法对各种不同类型的板子进行再生结果，再生板的检测灵敏度不低于新板，并可重复使用多次。

酶联免疫吸附法（ELISA）所用的聚苯乙烯板据文献报导使用一次后不再重复使用。为了降低ELISA使用成本，我们曾试用过一种简单的再生方法，取得了良好效果，并作过简要介绍[1]。经有关单位使用结果表明效果良好，使用方便[2]。为了更加广泛推广使用，我们对再生方法及原理作了进一步的探讨，现将结果报告如下：

方 法

ELISA用的聚苯乙烯板或珠子是由聚苯乙烯材料制成的。它是一种离子交换树脂，是靠静电引力进行交换和结合的[3]。蛋白质是一种带有正负两种电荷的大分子物质。因此，我们用酸性溶液进行处理，使其重新带上电荷，具体方法如下：

1. 再生方法：ELISA用后的聚苯乙烯板立即用自来水将反应基质液冲洗干净，放入中等浓度的清洁液或4 N盐酸中浸泡4小时以上，浸泡过程中，注意排出孔中的气体，使再生液体充满。取出后先用自来水冲洗干净，然后用蒸馏水清洗两次，烘干后即可供ELISA使用。前一段时间，蒸馏水洗净后，曾经用脱脂棉擦每一个孔，后来根据静电结合的原理，我们省去了脱脂棉擦这一步，取得同样的效果。

2. 聚苯乙烯板（珠）的种类：清洁液和4 N盐酸再生试验用上海塑料三厂不同批次40孔板。清洁液重复再生试验用四川仪表九厂55孔板。聚苯乙烯珠系美国Abbott药盒用品。

ELISA检测方法，结果测定用7毫米光程的比色杯，其它方法与文献报导相同[1]。固相放射免疫法检测乙肝表面抗体（抗-HBs），按Abbott药盒使用说明书进行。

结 果 与 讨 论

用清洁液和4 N盐酸浸泡法再生板与新板同时进行ELISA检测HBsAg的试验，其结果分别见表1和表2：

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表1 清洁液再生板与新板检测灵敏度

板种类	1:1000血清OD	1:2000血清OD	1:4000血清OD	1:8000血清OD	1:16000血清OD
	+/−	+/−	+/−	+/−	+/−
新 板	0.355/0 028	0.14 /0.023	0.112/0.025	0.087/0.026	0.065/0.027
再生板	0.625/0.015	0.237/0.017	0.152/0.015	0.10 /0.022	0.075/0.02

注：此次试验光密度（OD值）系用4毫米光程比色杯测定

表1结果表明HBsAg阳性血清的光密度再生板比新板高，而HBsAg阴性血清的光密度再生板比新板低，P/N比值再生板高于新板，证明再生板用于ELISA试验检测灵敏度不低于新板。

表2 4N盐酸再生板与新板检测灵敏度比较

板种类	原液OD	1:10血清OD	1:100血清OD	1:1000血清OD	1:10000血清OD	1:100000血清OD
	+/−	+/−	+/−	+/−	+/−	+/−
新 板	1.45/0.125	1.4 /0.07	1.3 /0.07	0.76/0.06	0.4 /0.045	0.09/0.04
再生板	1.45/0.04	1.25/0.035	1.15/0.05	0.74/0.03	0.35/0.04	0.21/0.035

从表2的结果看出，HBsAg阳性血清和阴性血清光密度再生板均低于新板，而P/N值再生板与新板无明显差别，证明用4 N盐酸浸泡法再生板用于ELISA也是可行的。

为了探索清洁液再生法对ELISA用聚苯乙烯板重复使用次数，用四川仪表九厂生产的同一块聚苯乙烯板连续进行四次再生试验，每次均与同批新板同时进行ELISA检测HBsAg灵敏度比较，结果见表3。

表3 清洁液浸泡法重复再生板与新板检测灵敏度比较

板 种 类	1:1000血清OD	1:4000血清OD	1:8000血清OD	1:16000血清OD	1:32000血清OD
新 板	0.61/0.025	0.25/0.03	0.12/0.03	0.09/0.05	0.06/0.025
再生1次板	0.75/0.03	0.38/0.035	0.25/0.04	0.12/0.04	0.13/0.04
新 板	0.84/0.045	0.35/0.05	0.19/0.045	0.13/0.045	0.09/0.045
再生2次板	0.815/0.03	0.345/0.04	0.23/0.05	0.14/0.06	0.10/0.06
新 板	0.87/0.035	0.415/0.035	0.25/0.01	0.12/0.02	0.11/0.02
再生3次板	0.645/0.08	0.34/0.05	0.19/0.06	0.15/0.035	0.11/0.065
新 板	0.57/0.06	0.22/0.02	0.11/0.04	0.07/0.04	0.033/0.01
再生4次板	0.52/0.045	0.26/0.02	0.16/0.02	0.12/0.05	0.09/0.01
新板均值	0.73/0.033	0.31/0.034	0.16/0.031	0.10/0.039	0.073/0.025
再生板均值	0.68/0.046	0.33/0.043	0.21/0.043	0.13/0.046	0.11/0.044

表3结果表明，ELISA用聚苯乙烯板重复再生四次，其检测灵敏度与新板基本相同。从

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

总平均值来看，阴性标本中OD值略高于新板，在低滴度阳性标本中OD值也高于新板，P/N值基本接近。再生板和新板同时用于ELISA检测HBsAg，共检测门诊病人标本100份，新板检出HBsAg（+）23份，再生板也检出23份，标本号完全一致，再生板个别阳性标本OD值略低于新板，但不影响实际检测效果。

我们还用清洁液浸泡法对美国Abbott实验室的固相放免（RIA）检测乙肝表面抗体（抗-HBs)用药盒中聚苯乙烯珠进行再生(检测结果为阴性者)。用我室的纯HBsAg进行包被后，重新用于RIA检测抗-HBs试验，经与原药盒中所供的珠子进行比较，每次实验阳性和阴性标本，分别用两个再生珠和两个新珠同时进行，检测灵敏度与新珠子基本相同，结果见表4：

表4　再生珠和新珠用于RIA检测抗-HBs结果比较

珠种类	第一组		第二组	
	+/-cpm	P/N	+/-cpm	P/N
新珠	2883/102	67	2975/93	121
再生珠	2303/103	62	2153/71	104

由于新珠子和再生珠子用于检测抗-HBs是分两次进行的，每分钟脉冲计数（cpm）有一些差别，但P/N值新珠与再生珠基本相近。另外也可能由于用纯HBsAg包被的方法不同，对结果有所影响。我们用再生珠进行抗-HBs检测，共检测40余份标本，均取得较好的结果。

我们用清洁液浸泡法对三个不同厂家生产的不同批次的聚苯乙烯板（珠）和对同一块聚苯乙烯板进行重复再生的结果，其检测灵敏度不低于新板（珠），证明此种再生方法是有效的，并可以消除乙肝病毒的传染性。在进行重复再生试验中，再生板阴性标本的OD值略高于新板，可能是由于用蒸馏水清洗时浸泡时间太短，可增加浸泡时间到1小时以上。从试验结果来看，再生方法以清洁液浸泡法优于4 N盐酸浸泡法。因为清洁液中不仅含硫酸，而且还有大量的重铬酸钾，它有利于清除聚苯乙烯板上所残留的蛋白质之故。清洁液法再生聚苯乙烯板至少可以使用五次以上，降低了成本，为ELISA和RIA的广泛应用创造了有利条件。

参考文献

（1）田荣福等：中华医学杂志 61:478,1981。
（2）霍克强等：太原市卫生防疫站，内部资料，1981
（3）库珀 T G （徐晓利译）：生物化学工具 人民卫生出版社，1980年。

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net