

三酰甘油对酶联免疫吸附试验检测梅毒螺旋体抗体的影响

张光永, 许 艳(四川省宜宾市中心血站 644000)

【摘要】 目的 探讨三酰甘油(TG)对酶联免疫吸附试验(ELISA)检测梅毒螺旋体(TP)抗体的影响。**方法** 收集不同滴度 TP 抗体的阳性血浆样本 3 份, 每份分为对照组和 3 个实验组, 对照组用蒸馏水稀释 10 倍, 实验组用不同浓度的 TG 脂血浆稀释 10 倍。用 ELISA 检测 TP 抗体的吸光度(A)值并做定性判读。**结果** 实验组 A 值与对照组 A 值之间差异有统计学意义。高、中滴度 TP 抗体阳性样本实验组之间 A 值差异无统计学意义, 高浓度 TG 对 TP 抗体双抗原夹心 TP-ELISA 检测高、中滴度 TP 抗体阳性样本有影响, 但 A 值并不随 TG 浓度的增加而显著下降。高、中滴度 TP 抗体阳性样本对照组和实验组定性判读均为阳性。低滴度 TP 抗体弱阳性样本实验组之间 A 值差异有统计学意义, 随着 TG 浓度的增加 A 值显著下降, 定性判读对照组结果为阳性, 实验组结果为假阴性。**结论** 高浓度 TG 影响 TP-ELISA 检测 TP 抗体, A 值降低, 弱阳性样本定性判读可能出现假阴性结果。

【关键词】 三酰甘油; 梅毒螺旋体; 抗体; 酶联免疫吸附试验

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2013.09.020 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2013)09-1099-02

Influence of triglyceride on the detection of treponema antibody by ELISA ZHANG Guang-yong, XU Yan (Blood Center of Yibin, Sichuan 644000, China)

【Abstract】 Objective To explore the influence of triglyceride (TG) on the detection of *Treponema pallidum* (Tp) antibody by ELISA. **Methods** Three plasma samples with different titer of TP antibody were collected, and each was divided into control group and three experiment groups. The control group was diluted 10 times with distilled water, and each experiment group was diluted 10 times with plasma with different concentration of TG. Optical density (A value) of TP antibody was detected by ELISA and qualitative interpretation was performed. **Results** The A values of experiment group and control group were significantly different. The A values of high and medium titer positive samples were not significantly different. High concentration of TG had influence on the detection of samples with high and medium titer of TP antibody, but the A values did not decrease with the increasing of the concentration of TG. Qualitative interpretation of high and medium titer positive samples in control group and experiment group were all positive. The A values were with significant difference between low titer experimental group, with the increasing of the concentration of TG, A values decreased significantly, and the qualitative interpretation of control group result was positive, but the experiment group was false negative. **Conclusion** TP-ELISA could be affected by high concentration of TG. The A value would reduce, causing weak positive sample become with false negative result.

【Key words】 triglyceride; *Treponema pallidum*; antibody; enzyme linked immunosorbent assay

梅毒是由苍白密螺旋体引起的一种性传播疾病, 具有较强的传染性。梅毒螺旋体(TP)对人的黏膜及皮肤有很强的亲和性, 主要通过性接触传播, 输血也是重要传播途径, 为我国无偿献血必查血清学项目。近年来, 无偿献血者中感染梅毒的情况愈来愈多, 给输血安全带来了严重挑战。目前国内血站最常用的 TP 检测方法为 TP-酶联免疫吸附试验(ELISA), 该方法简单快速、灵敏度高、特异性好, 适合于仪器自动化大批量血液样本检测。但 ELISA 影响因素多, 标本中内源性干扰因素(包括类风湿因子、补体、高浓度非特异性免疫球蛋白、异嗜性抗体、某些自身抗体等)和外源性干扰因素(如标本溶血、标本被细菌污染、标本贮存时间过长、标本凝固不全等)均会导致检测结果的假阳性^[1]。国内对导致假阳性的干扰因素探讨较多, 容易忽略导致假阴性的干扰因素。无偿献血检测的样本是在采集血液时同步留取, 血液采集时间跨度较大, 采集到脂血样本的现象较严重。本研究随机收集不同滴度的 TP 抗体阳性样本, 以蒸馏水和不同浓度乳糜血浆做稀释, 探讨三酰甘油(TG)对 ELISA 检测 TP 抗体的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料 随机收集经 TP-ELISA 检测的高、中和低滴

度 TP 抗体阳性的无偿献血者血浆样本各 1 例, TG 在正常参考值范围, 阳性样本均经过梅毒螺旋体明胶凝聚试验(TPPA)确认; 同时随机收集 TP 抗体阴性且 TG 浓度为高、中、低不同的脂血浆各 1 份, TPPA 确认阴性。

1.2 试剂与仪器 以北京万泰生物药业股份有限公司 TP-ELISA 二步法检测试剂盒, 瑞士 TECAN 公司 RSP150 型全自动样品处理系统, 瑞士哈美顿公司 FAME24/20 全自动酶免仪进行 TP 检测, 操作步骤和结果判读按说明书要求进行。以日本东芝公司 TBA40-FRAccute 全自动生化分析仪及配套试剂检测 TG。

1.3 方法 将收集的 3 例 TP 抗体阳性样本用蒸馏水做 1:10 倍稀释, 作为实验对照组, 同时将 3 例 TP 抗体阳性样本均用 3 份不同 TG 浓度的脂血浆做 1:10 倍稀释, 为高、中、低浓度 TG 实验组。对照组和实验组样本进行 TP 抗体和 TG 检测, 每例样本平行检测 5 次, 记录 A 值和 TG 浓度。TP 抗体检测阴性对照 A 值的均值为 0.006, 样本 A 值大于或等于 0.186 为阳性; TG 正常参考值范围为 0.40~1.69 mmol/L。

1.4 统计学方法 采用 SPSS13.0 软件进行数据统计学分析; 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 *t* 检验; $P < 0.05$ 为

差异有统计学意义。

2 结 果

用不同 TG 浓度的脂血浆 10 倍稀释样本后与相应对照组相比,实验组样本 TP 抗体的 A 值均降低,不同滴度 TP 抗体阳性样本各实验组 A 值与相应对照组之间的差异有统计学意义($P < 0.05$),高、中滴度 TP 抗体阳性样本实验组之间 A 值

差异无统计学意义($P > 0.05$),低滴度 TP 抗体弱阳性样本实验组之间 A 值差异有统计学意义($P < 0.05$)。对照组和实验组 TP-ELISA 检测 A 值结果见表 1。高、中滴度 TP 抗体阳性样本实验组定性判读结果与对照组一致,均为阳性;低滴度 TP 抗体弱阳性样本实验组定性判读结果与对照组不一致,对照组为阳性,低滴度 TP 抗体弱阳性样本定性结果为阴性,见表 1。

表 1 对照组和实验检测 A 值和 TP 定性判读结果

组别	TG(mmol/L) ($\bar{x} \pm s$)	A 值($\bar{x} \pm s$)			TP 抗体判读结果		
		TP 高滴度	TP 中滴度	TP 低滴度	高滴度样本	中滴度样本	低滴度样本
对照组	0.24±0.03	2.876±0.187	1.897±0.173	0.423±0.092	+	+	+
实验组 低 TG 浓度组	3.96±0.12	2.404±0.117	1.100±0.187	0.167±0.025	+	+	-
中 TG 浓度组	7.77±0.21	2.362±0.111	0.969±0.126	0.075±0.010	+	+	-
高 TG 浓度组	10.78±0.32	2.210±0.149	0.899±0.142	0.014±0.007	+	+	-

注: + 表示阳性, - 表示阴性。

3 讨 论

从 1998 年起我国实行无偿献血制度,血液全部来源于健康公民自愿无偿献血,为了满足临床用血需求,血站加大采血力度,延长流动采血车街头采血时间,献血者也方便在街头流动献血车参加献血。流动采血由于条件限制只能操作简单快速的筛查,采集前未能进行 TG 检测,采集到高脂血液比例在增加,血脂离心后血浆呈明显乳白色浑浊不透明,严重影响血液检测和血液质量,主要的影响物质就是内源性 TG。

近年来,我国各地献血者梅毒阳性率的报道均呈逐年上升趋势^[2-3]。据卫生部发布的全国法定传染病疫情概况,最近几年梅毒一直是处在报告发病数第 3 位。血液在 4℃ 条件储存 24~72 h TP 失去活性,经输血感染的危险性小,但由于浓缩血小板等储存时间短,要求在 24 h 内输注,储存条件也不是 4℃,输入含有 TP 的此类血液可导致 TP 的感染,我国规定献血者必须进行 TP 检测。TP 常用的检测方法有非特异性的方法包括快速血浆反应素环状卡片试验和甲苯胺红不加热血清反应素试验,特异性的方法包括 TP 血球凝集试验、TPPA 和 ELISA^[4]。ELISA 具有敏感性高、特异性强、操作简单、便于自动化检测以及标本量大等优点,非常适合血站对血液的筛查^[5-6]。

本实验结果表明,高浓度 TG 明显影响 ELISA 检测 TP 抗体,与对照组相比,实验组 TP 抗体的 A 值明显降低,其差异有统计学意义($P < 0.05$)。高、中滴度 TP 抗体阳性样本实验组之间 A 值差异无统计学意义,高浓度 TG 对高、中滴度阳性样本 TP 抗体检测有影响,但 A 值并不随 TG 浓度的增加而显著下降。高、中滴度 TP 抗体阳性样本实验组定性判读均为阳性,与对照组一致。低滴度 TP 抗体弱阳性样本实验组之间 A 值差异有统计学意义($P < 0.05$),随着 TG 浓度的增加 A 值显著下降,定性判读对照组结果为阳性,实验组结果为假阴性,且 TG 浓度越高对 TP 抗体的 A 值和定性判读影响越大。

脂浊血浆样本为浑浊外观,血浆黏度加大,主要为含有大量 TG 的脂蛋白引起。含有大量 TG 的脂蛋白体积比 TP 抗体大,在孵育过程中具有屏蔽效应,阻碍了 TP 抗体与固相的充分结合,从而导致 A 值降低,弱阳性样本甚至出现假阴性结果。振荡孵育加速了反应杯中物质的运动,有利于梅毒抗体和

固相的结合,能够提高检测灵敏度,但是现在缺乏专用的设备和标准。为了加强血液质量,防止经输血传染疾病,我国部分血站已采取核酸联合检测输血传染病指标,核酸检测不受脂血、溶血等影响,但由于投入高,对人员和试验条件要求严格,在基层血站还不能很快推广,也有报道核酸检测不适合梅毒的血清学诊断^[7-8],我国血站主要还是采用 ELISA 检测梅毒。

健康成人空腹 12~14 h 后 TG 就恢复正常,无偿献血者均要求为健康成人。TG 是血浆中固有的成分,不能完全从血液中清除,只要控制在正常水平就不会影响血液检测。健康成人最好的控制方式就是注意饮食的合理搭配,减少高脂高蛋白过量摄入。全国采供血机构应该加大无偿献血宣传力度,献血者减少献血前高脂高蛋白的摄入,做好固定定时献血准备,减少高脂高蛋白餐后街头流动不规则献血,增加定期献血,有利于减少脂血比例。

参考文献

- [1] 李金明. 感染性疾病血清学检测中应重视对弱反应性标本的确认[J]. 中华检验医学杂志, 2006, 29(7): 577-580.
- [2] 刘天尧, 杜艳丽, 郑伟. 哈尔滨地区 285 052 名献血者梅毒感染情况调查[J]. 中国输血杂志, 2008, 21(11): 877-878.
- [3] 黄腊梅. 巴中市 2006~2007 年无偿献血者血液检测结果分析[J]. 检验医学与临床, 2008, 5(16): 969-970.
- [4] 蒙在杨. 梅毒检测技术进展[J]. 检验医学与临床, 2011, 8(21): 2627-2628.
- [5] 欧阳玲, 谢秀华, 黄守民, 等. 几种梅毒螺旋体检测方法在献血者血液筛查中的效果评价[J]. 检验医学与临床, 2010, 7(4): 312-313, 315.
- [6] 阮光强, 陈卫. 梅毒检测方法的比较分析[J]. 检验医学与临床, 2011, 08(20): 2470-2471.
- [7] 王珍光, 郭建巍, 马骢, 等. 梅毒检测方法的临床应用研究[J]. 现代检验医学杂志, 2011, 26(1): 152-155.
- [8] 郑王平, 张杰, 严佳斌. 梅毒螺旋体抗体筛查及其临床意义[J]. 临床和实验医学杂志, 2012, 11(23): 1878-1879.

(收稿日期: 2012-10-30 修回日期: 2012-12-29)