

• 经验交流 •

电化学发光法检测抗环瓜氨酸肽抗体的诊断效能评价*

梁 鹏¹, 张劲丰¹, 苏 荣¹, 安宏亮¹, 简少珍¹, 郑宝林²
(佛山市中医院: 1. 检验科; 2. 风湿科, 广东佛山 528000)

摘要:目的 采用电化学发光法(ECL)检测抗环瓜氨酸肽抗体(Anti-CCP), 评价 ECL 检测 Anti-CCP 的诊断性能。方法 选取 173 例类风湿关节炎(RA)患者, 93 例对照组人群, 分别用 ECL、免疫比浊法检测其血清 Anti-CCP、类风湿因子(RF)的水平。结果 173 例 RA 组患者中用 ECL 检测 Anti-CCP 阳性 167 例, 诊断灵敏度为 96.53%; 用免疫比浊法检测 RF 阳性 163 例, 诊断灵敏度为 94.22%。93 例对照组中, 检测 Anti-CCP 阳性为 9 例, 故诊断特异度为 90.32%(84/93)。对照组患者检测 RF 阳性为 22 例, 故诊断特异度为 76.34%(71/93)。Anti-CCP 和 RF 的受试者工作特征曲线(ROC 曲线)下面积分别为 0.989, 0.959, 当 Anti-CCP 水平等于 17.50 U/mL 时, 诊断 RA 的灵敏度和特异度分别为 96.5% 和 90.3%。结论 采用 ECL 检测 Anti-CCP 特异度高、线性范围宽、稳定性高, 对 RA 的诊断效能优于 RF, 能有效识别早期 RA 或排除 RF 假阳性反应, 为 RA 的早期诊断提供了另一全新检测手段。

关键词: 电化学发光法; 抗环瓜氨酸肽抗体; 类风湿因子; 类风湿关节炎
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.18.049 **文献标识码:**B **文章编号:**1673-4130(2014)18-2535-02

类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种病因不明, 以慢性多关节炎为特征的系统性自身免疫性疾病, 临床特征为对称性大小关节滑膜的炎症, 可导致关节强直、畸形和功能丧失, 中国成人发病率已达 0.3%。早期具有诊断学价值的血清学指标只有类风湿因子(rheumatoid factor, RF), 在很多其他结缔组织病、慢性感染、某些内分泌疾病都可以检测到 RF, 因此给 RA 的早期诊断带来一定困难。2000 年, 国外首次报道抗环瓜氨酸肽抗体(anti cyclic citrullinated pepetide antibodies, Anti-CCP)可用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测, 检测到的 Anti-CCP 对 RA 具有很高的特异性, 因此 Anti-CCP 在 RA 诊断中的价值逐渐被广泛认可^[1]。目前电化学发光法(electrochemical luminescence, ECL)检测 Anti-CCP 是近年来发展的一种新检测方法, 已被国外许多实验室选作检测 Anti-CCP 重要方法之一。本研究按照疾病分组, 通过 ECL 检测 Anti-CCP 与 RF 指标的比较, 以探讨 ECL 检测 Anti-CCP 对 RA 诊断效能的评价。

1 资料与方法

1.1 一般资料 266 例标本均来自 2012 年 1 月至 2013 年 12 月本院就诊风湿科住院治疗与门诊患者。RA 组患者 173 例, 其中男性 44 例, 女性 129 例; 年龄 22~87 岁, 平均 58.6 岁; 诊断标准和辅助检查均符合 2009 年美国风湿病学会修订的 RA 诊断标准^[2]。非 RA 疾病对照组患者 62 例, 其中, 男性 28 例, 女性 34 例; 年龄 11~83 岁, 平均 54.8 岁; 包括骨关节炎 30 例, 痛风 16 例, 强直性脊椎炎 6 例, 骨质疏松 6 例, 系统性红斑狼疮 4 例。健康对照组 31 例, 来自于本院体检中心健康人群, 其中, 男性 13 例, 女性 18 例; 年龄 12~79 岁, 平均 51.9 岁。

1.2 方法

1.2.1 样本处理 患者于晨起空腹抽取肘静脉血 3 mL, 注入非抗凝的灭菌离心管中, 静置 1~2 h 后离心, 留取血清检测。

1.2.2 Anti-CCP 测定 采用电化学发光法, 仪器为德国罗氏 E170 化学发光仪及配套试剂盒检测, Anti-CCP>17 U/mL 判定为阳性。

1.2.3 RF 测定 采用免疫比浊法, 仪器为日本奥林巴斯 AU5400 全自动生化分析仪, 试剂由日本生研公司提供, RF>20 IU/mL 判定为阳性。

1.3 统计学处理 应用 SPSS18.0 软件进行处理, 采用四格表计算检测 Anti-CCP 与 RF 的灵敏度和特异度, 两组样本的比较用 χ^2 检验, 以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。使用 ROC 曲线分析 Anti-CCP 对 RA 的诊断效能。

2 结 果

2.1 173 例 RA 组患者中用 ECL 检测 Anti-CCP 阳性 167 例, 诊断灵敏度为 96.53%, 用免疫比浊法检测 RF 阳性 163 例, 诊断灵敏度为 94.22%。62 例非 RA 疾病对照组中, Anti-CCP 阳性率为 14.52%(9/62), 31 例健康对照组中未检出 Anti-CCP 阳性(0/31), 非 RA 组共 93 例, Anti-CCP 阳性 9 例, 故诊断特异度为 90.32%(84/93)。66 例非 RA 疾病对照组中, RF 阳性率为 30.65%(19/62), 31 例健康对照组中, RF 阳性率为 9.68%(3/31), 非 RA 组共 93 例 RF 阳性为 22 例, 故诊断特异度为 76.34%(71/93)。见表 1。

表 1 Anti-CCP 与 RF 结果比较

组别	Anti-CCP			RF		
	阳性	阴性	合计	阳性	阴性	合计
RA 组	167	6	173	163	10	173
非 RA 组	9	84	93	22	71	93
非 RA 疾病对照组	9	53	62	19	43	62
健康对照组	0	31	31	3	28	31
特异度	90.32%			76.34%		
灵敏度	96.53%			94.22%		

2.2 RA 组中的 Anti-CCP、RF 水平分别与非 RA 疾病对照组、健康对照组比较, 差异有统计学意义($P<0.01$)。见表 2。

* 基金项目: 2014 年度佛山市卫生局医学科研立项课题(2014128)。

表 2 不同组间 Anti-CCP、RF 水平比较

项目	RA 组	非 RA 疾病对照组	健康对照组
Anti-CCP(U/mL)	311.29±143.91*	11.35±7.70	2.18±0.76
RF(IU/mL)	115.01±45.20*	16.56±13.03	12.33±5.83

*: $P<0.01$, 与非 RA 疾病对照组和健康对照组比较。

2.3 根据 ROC 曲线分析, Anti-CCP 和 RF 的 ROC 曲线下面积分别为 0.989 和 0.959, 见图 1。依据 ROC 曲线结果, Anti-CCP 选取不同测定值对 RA 诊断效能评价, 见表 3。

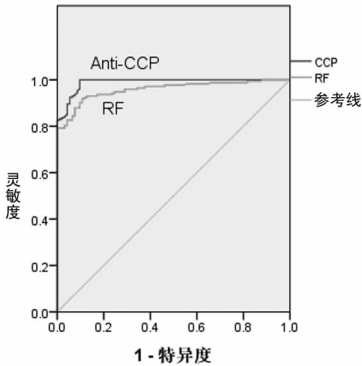


图 1 Anti-CCP、RF 对 RA 的诊断效能比较

表 3 Anti-CCP 取不同测定值对 RA 诊断效能评价 (%)

Anti-CCP(U/mL)	灵敏度	特异度	漏诊率	误诊率	约登指数
11.00	0.971	0.902	0.029	0.098	0.873
17.50	0.965	0.903	0.035	0.097	0.869
53.00	0.925	0.935	0.075	0.065	0.860
115.00	0.827	0.946	0.173	0.054	0.773
302.00	0.486	0.989	0.514	0.011	0.475
401.50	0.382	1.000	0.618	0.000	0.382

3 结 果

RA 患者早期诊断及治疗是控制病情的关键, 如何进行 RA 的早期诊断, 尤其是非典型 RA 的诊断, 一直是困扰临床医生的最大问题。Anti-CCP 已被证实是由分泌 Anti-CCP 功能的 B 淋巴细胞产生, 而这些细胞存在于 RA 患者的外周血、关节液及骨髓中, 这些 B 淋巴细胞可自发地分泌 Anti-CCP, 而健康人的外周血 B 细胞不会自发产生 Anti-CCP^[4]。本文研究显示, RF 在骨关节炎、强直性脊椎炎、骨质疏松患者及健康老年人中都可以检测到, 特异度为 76.34%, 此结果与国内徐胜前^[3]等报道 RF 特异性约为 80% 相近, 说明 RF 在其他自身免疫性疾病中有一定程度增高, 因此给 RA 的早期诊断带来一定困难。Anti-CCP 对 RA 诊断特异度为 90.32%, 灵敏度为 96.53%, Anti-CCP 与 RF 相比在灵敏度方面相当, 但在特异度方面 Anti-CCP 具有明显优势, 该抗体有助于早期 RA 及 RF 阴性 RA 的诊断, 并可用于区分 RA 和其他 RF 阳性骨关节炎症。也有研究显示, 高滴度 Anti-CCP 与 RA 的进展、骨关节破坏及疾病严重程度均有关^[5]。目前, Anti-CCP 已是诊断 RA 的一项重要血清学指标, 2009 年美国风湿病协会 (ACR) 的分类标准已将 Anti-CCP 作为类风湿关节炎诊断指标之一。

目前, 国内大多数实验室采用 ELISA 检测 Anti-CCP,

ELISA 所用底物酶不稳定极易受温度和 pH 值的影响, 另外 ELISA 较难采用仪器自动化, 整个检测过程所需时间较长, 手工影响因素较多。本研究采用 ECL 检测 Anti-CCP, 取得了满意的临床效果。ECL 是一种新型的检测分析技术, 采用电化学发光和免疫测定技术相结合, 具有很高的灵敏度和较宽的线性范围, 国外许多实验室已逐步用 ECL 取代 ELISA。分析其检测原理, 由于 ECL 采用了钌复合物标记 a 单克隆抗体, 而钌复合物为非放射性惰性元素, 化学性质稳定, 其盐为水溶性化合物, 试剂稳定性好, 效期长。钌复合物在电极表面氧化还原循环反应测定信号循环放大, 使得检测的灵敏度提高。另外, 由于是 4 分子生物素与 1 分子抗生物素蛋白链菌素相结合, 结合力强, 也提高了检测的灵敏度。磁珠悬浮于液相中均一稳定, 磁性吸引易于抗原-抗体复合物的结合^[6]。ECL 特有的技术特点使该方法成为近年来发展迅速的检测手段。

本研究结果表明, 从 ROC 曲线可以得出 Anti-CCP 与 RF 都获得较高的诊断度, 但 Anti-CCP 对 RA 的诊断效能优于 RF, 对于 Anti-CCP 阳性而无 RA 相关临床症状的患者建议定期临床随访或联合检测多项 RA 相关实验室指标, 以识别早期 RA 或排除假阳性反应。本研究发现, Anti-CCP 特异性高, 线性范围宽、稳定性高, ECL 测定 Anti-CCP 无论在高、中、低各截断点都获得较高的特异度, 较低的漏诊率和误诊率。当 Anti-CCP 水平等于 17.50 U/mL 时, 诊断 RA 的灵敏度和特异度分别为 96.5% 和 90.3%。即在保证较高灵敏度的同时达到了很高的诊断特异度。因此当 Anti-CCP 水平较高时将有助于鉴别诊断 RA 和非 RA 的其他炎症疾病。全自动罗氏 E170 化学发光仪检测 Anti-CCP 自动化程度高, 有较高的灵敏度和特异性, 操作简便, 20 min 出结果, 能随到随做, 标本无需稀释即可直接上机检测, 不仅降低了人为因素的干扰, 也节约了人力资源, 大大方便了患者, 且同一批次试剂不用每日定标, 结果稳定可靠。

综上所述, 采用 ECL 检测 Anti-CCP 特异性高、线性范围宽、稳定性高, 对 RA 的诊断效能优于 RF, 能有效识别早期 RA 或排除 RF 假阳性反应, 为 RA 的早期诊断提供了另一全新检测手段。

参考文献

[1] 梁鹏, 简少珍, 郑宝珠. 抗环瓜氨酸肽抗体对不同发病年龄类风湿关节炎的早期诊断价值[J]. 现代医药卫生, 2012, 28(23): 3542-3543.

[2] 张卓莉. 类风湿关节炎诊断中的又一里程碑: 美国风湿病学会/欧洲抗风湿联盟类风湿关节炎分类标准正式发表[J]. 中华风湿病学杂志, 2010, 14(10): 717-718.

[3] 徐胜前, 连莉, 徐建华. 抗环瓜氨酸肽抗体在不同发病年龄类风湿关节炎患者中的差异[J]. 中国综合临床, 2009, 25(2): 164-167.

[4] 丁杰, 张晶, 宁永忠. 抗环瓜氨酸肽抗体与类风湿关节炎相关研究进展[J]. 中国误诊学杂志, 2011, 11(28): 6825-6826.

[5] 黄毅, 高飞, 杨晓冬. 抗环瓜氨酸肽抗体水平与风湿性关节炎患者关节损害分期的相关性[J]. 福建医科大学学报, 2006, 40(2): 175-176.

[6] 白伊娜, 宋宁, 李萍, 等. 电化学发光免疫测定与酶联免疫吸附试验检测抗环瓜氨酸肽抗体比较[J]. 中华临床免疫和变态反应杂志, 2012, 6(4): 241-246.