

• 论 著 •

2 种检测方法在类风湿关节炎抗环瓜氨酸肽抗体检测中临床价值比较*

杜满兴, 王伟佳[△], 黄秋虹

(中山市人民医院检验医学中心, 广东中山 528403)

摘要:目的 比较化学发光微粒子免疫(CMIA)测定法与酶联免疫吸附试验(ELISA)法检测抗环瓜氨酸肽(CCP)抗体,在类风湿关节炎(RA)诊断中的临床应用价值。方法 采用 CMIA 法与 ELISA 法分别检测 895 例研究对象的抗 CCP 抗体,其中包括 RA 患者 252 例,骨关节炎 112 例,结缔组织 37 例,系统性红斑狼疮 39 例,骨质疏松 46 例,其他疾病 329 例,80 例健康对照者。结果 CMIA 法检测抗 CCP 抗体的精密度批内、批间变异系数分别为 1.7%、2.9%;2 种方法检测抗 CCP 抗体符合率为 90.0%。CMIA 法检测高浓度抗 CCP 抗体血清样本稀释验证结果显示,标本浓度稀释至 1:160 线性 R 值仍均大于 0.9。CMIA 法检测 RA 阳性为 183 例(72.61%),骨关节炎阳性 65 例(58.04%),结缔组织病阳性为 12 例(32.43%),系统性红斑狼疮阳性 16 例(41.02%),骨质疏松阳性 9 例(19.56%),其他疾病阳性 16 例(4.86%)。在 ELISA 法检测中,骨质疏松阳性 12 例(26.08%),灵敏度略高于 CMIA 法,其余灵敏度均低于 CMIA 法。80 例为健康对照者在 2 种方法检测中均为阴性。结论 CMIA 法对 RA 诊断的灵敏度、特异度与 ELISA 法具有较好的一致,值得临床推广应用。

关键词:化学发光; 抗环瓜氨酸肽抗体; 类风湿关节炎

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.11.018

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)11-1523-03

Comparison of two methods in anti-cyclic citrullinated peptide antibody detection in rheumatoid arthritis patients^{*}Du Manxing, Wang Weijia[△], Huang Qiuhong

(Center of Laboratory Medicine, Zhongshan People's Hospital, Zhongshan, Guangdong 528403, China)

Abstract: Objective To compare chemiluminescence immunoassay (CMIA) method and enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) in anti-cyclic citrullinated peptide antibody (anti-CCP) detection in rheumatoid arthritis (RA) patients. **Methods** The CMIA method and ELISA were used to detect the anti-CCP in 895 people, including 252 RA patients, 112 patients with osteoarthritis, 37 connective tissue patients, 39 systemic lupus erythematosus patients, 46 osteoporosis patients, 329 patients with other disease and 80 healthy controls. **Results** The batch precision and inter assay coefficients of variation of CMIA method for the detection of anti-CCP were 1.7%, 2.9%. The coincidence rate of CMIA and ELISA method was 90.0%. CMIA method for detection of high level of serum anti-CCP in the sample dilution experiment results showed that the concentration of the sample was diluted to 1:160, linear R value was greater than 0.9. CMIA method and ELISA method for detection of anti CCP antibody related test results showed that the CMIA method for detection of rheumatoid arthritis (RA) patients of 252 cases, positive in 183 cases (72.61%); 112 patients with osteoarthritis, positive in 65 cases (58.04%); connective tissue in 37 cases, positive in 12 cases (32.43%); 39 patients with systemic lupus erythematosus, positive in 16 cases (41.02%); osteoporosis in 46 cases, positive in 9 cases (19.56%); other diseases in 329 cases, 16 cases were positive (4.86%). In the ELISA assay, osteoporosis in 46 cases, 12 cases were positive (26.08%) sensitivity was slightly higher in the CMIA method, CMIA method were lower than the rest of the sensitivity. 80 cases of healthy controls were detected in two kinds of methods were negative. **Conclusion** The sensitivity and specificity of CMIA method is consistent with ELISA method in the diagnosis of RA, which is worthy of promotion in clinic.

Key words: chemiluminescence; anti-cyclic citrullinated peptide antibody; rheumatoid arthritis

类风湿关节炎(RA)是一种常见的系统性自身免疫性疾病,通常导致进行性的关节破坏,致残率很高^[1]。近年来的证据显示,早期诊断和系统治疗是防止关节畸形和致残的关键^[2-3]。虽然类风湿因子(RF)对于诊断 RA 具有较高的灵敏度,但不具备特异性,在风湿性关节病患者和老年人体内也可以检测到。2000 年 Schellekens 等^[4]采用酶联免疫吸附试验(ELISA)法为基础研究发现,抗环瓜氨酸肽(CCP)抗体对 RA 诊断有较好的特异度和灵敏度。2007 年欧洲风湿病防治联合会(EULAR)出版了早期 RA 诊断指南,其中将抗 CCP 抗体作为诊断 RA 的新血清学标志物。目前,实验室检测抗 CCP 抗体多采用 ELISA 法。本研究应用化学发光微粒子免疫

(CMIA)测定法检测抗 CCP 抗体,通过与 ELISA 法的比较,观察其对 RA 的诊断价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2012 年 8 月至 2014 年 7 月,本院风湿专科就诊的患者 815 例,其中 RA 组 252 例,骨关节炎组 112 例,结缔组织组 37 例,系统性红斑狼疮组 39 例,骨质疏松组 46 例,其他疾病组 329 例。RA 诊断符合 1987 年美国风湿病学会修订的 RA 分类标准。另随机选择 80 例体检健康者纳入对照组。

1.2 仪器与试剂 抗 CCP 抗体采用美国雅培 i2000 自动化学发光仪及配套雅培 ARCH ITECTANTI CCP 试剂盒检测。ELISA 法采用德国康润生物 RA/CP 酶免试剂盒检测,所有试

* 基金项目:广东省中山市科技局医疗卫生科研基金项目(B2013144)。 作者简介:杜满兴,女,主管检验师,主要从事临床检验研究。 △ 通讯作者, E-mail: dumanxing@yeah.net。

剂盒均在有效期内使用,并严格按照试剂盒说明操作及判断结果。

1.3 标本采集 所有被试均于清晨空腹,使用真空采血管抽取肘部静脉血 4 mL,并于 30 min 内,以 3 000 r/min 离心 10 min,分离血清后置于 -20 °C 冰箱保存,一次融化后测定。

1.4 检测方法 (1)CMIA 法:根据参考人群,得出 Cut-off 值为 5 U/mL,检验结果大于或等于 5 U/mL 为阳性,小于 5 U/mL 为阴性。(2)ELISA 法:抗体水平用相对吸光度(OD)值表示。OD 值小于 0.8×OD 临界质控为阴性;OD 值在 0.8×OD 临界质控至 1.2×OD 临界质控为可疑;OD 值大于 1.2×OD 临界质控为阳性。精密度:用同一批 ARCH ITECTANTI CCP 试剂盒对低、中、高三个定值浓度(3、70、160 U/mL)的 3 份血清标本进行测定,每天在上、下午两个不同时间段分别检测 2 次,共检测 10 d。稀释验证:采用 CMIA 法对 5 份抗 CCP 抗体浓度大于 200 U/mL 的标本进行 1:20、1:40、1:80、1:160 的稀释,标本稀释测定后进行线性分析,应用自动稀释和手工稀释程序进行检测,二者结果平均差异±10%。符合率计算:选择确定的阴性和阳性标本各 20 份进行 2 种方法检测并进行计算,阴性符合率=(测定阴性数-真阴性数)/真阴性数×100%,阳性符合率=(测定阳性数-真阳性数)/真阳性数×100%。

1.5 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行数据处理及统计学分析,计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 CMIA 法检测抗 CCP 抗体实验的精密度 CMIA 法检测抗 CCP 抗体精密度结果见表 1。

表 1 CMIA 法检测抗 CCP 抗体精密度(n=20)

编号	试剂批号	平均检测值 (U/mL)	批内		批间	
			SD	CV(%)	SD	CV(%)
标本 1	10383UP00	2.905	0.046	1.700	0.700	2.700
标本 2	10383UP00	68.435	1.159	1.800	1.739	2.700
标本 3	10383UP00	163.760	2.947	1.800	4.421	2.900

2.2 稀释验证 CMIA 法检测高浓度抗 CCP 抗体血清标本线性回归分析结果显示,5 份血清标本浓度稀释至 1:160 线性 R 值仍均大于 0.9。

2.3 符合率 20 份确定为阳性标本,在 CMIA 法测定中阳性为 20 份(100.0%),在 ELISA 法测定中阳性为 18 份(90.0%);20 份确定为阴性标本,在 CMIA 法测定中阴性为 19 份(95.0%),在 ELISA 法测定中阴性为 18 份(90.0%)。2 种方法检测抗 CCP 抗体符合率为 90.0%。

2.4 CMIA 法和 ELISA 法检测抗 CCP 抗体阳性率比较 经 χ^2 检验,提示 2 种方法对抗 CCP 抗体检测阳性率差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 2。

表 2 CMIA 法和 ELISA 法检测抗 CCP 抗体阳性率比较[n(%)]

组别	n	CMIA 法		ELISA 法	
		阴性	阳性	阴性	阳性
RA 组	252	69(27.38)	183(72.61)	76(30.16)	176(69.84)
骨关节炎组	112	47(41.96)	65(58.04)	49(43.75)	63(56.25)
结缔组织病组	37	25(67.56)	12(32.43)	27(72.97)	10(27.03)
骨质疏松组	46	37(80.43)	9(19.56)	34(73.91)	12(26.08)
红斑狼疮病组	39	23(58.97)	16(41.02)	24(61.54)	15(38.46)
其他疾病组	329	313(95.14)	16(4.86)	313(95.14)	16(4.86)
对照组	80	80(100.00)	0(0.00)	80(100.00)	0(0.00)

3 讨 论

RA 是一类以关节炎为主要临床表现的自身免疫系统疾病。通常在发病 6 个月内可出现骨关节的破损,2 年内可出现不可逆的骨关节损伤。彭晓东等^[5]报道国内发病率为 0.32%~0.40%,是造成劳动者残疾的主要病因之一。本研究用 CMIA 法与 ELISA 法检测抗 CCP 抗体,并进行比较,结果显示 CMIA 法有较高的精密度。批内变异系数为 1.7%~1.8%,批间变异系数为 2.7%~2.9%,远低于其他文献报道 ELISA 法的 8.2%~9.6%^[6]。本研究结果显示,采用 CMIA 法对 5 份浓度大于 200 U/mL 的标本进行 1:20、1:40、1:80、1:160 的稀释程序,进行稀释测定后进行线性分析,应用自动稀释和手工稀释程序进行检测,二者结果平均差异小于 10%,CMIA 法检测高浓度抗 CCP 抗体血清标本线性回归分析结果显示,5 份血清标本浓度稀释至 1:160 线性 R 值均大于 0.9。CMIA 法与 ELISA 法测 CCP 抗体的符合率达 90.0%,低于相关文献报道的 96.7%^[7]。对于 5 例符合率检

测结果不一致的标本,经对比临床资料证实,CMIA 法的检测结果与临床诊断相符。ELISA 法检测受干扰因素多,血浆、带红细胞血清、无纤维蛋白、RF 阳性等,尤其是 RF 浓度较高的患者,均可引起假阳性、假阴性出现^[8]。房国祥等^[9]研究发现 ELISA 法检测血清存在稳定性和重复性欠佳,检测线性范围窄,不易标准化等缺点。本研究分别用 CMIA 法和 ELISA 法同时检测 RA 患者 252 例,阳性为 183 例(72.61%);骨关节炎 112 例,阳性为 65 例(58.04%);结缔组织 37 例,阳性为 12 例(32.43%);系统性红斑狼疮 39 例,阳性为 16 例(41.02%);骨质疏松 46 例,阳性为 9 例(19.56%);其他疾病 329 例,阳性 16 例(4.86%)。在 ELISA 法检测中,骨质疏松 46 例,阳性 12 例(26.08%),灵敏度略高 CMIA 法,其余灵敏度均低于 CMIA 法。80 例健康对照者在 2 种方法检测中均为阴性。其余均高于 ELISA 法。抗 CCP 抗体水平在 RA 患者中结果稳定、灵敏度高、特异性强,还可能与滑膜炎和预后相关。抗 CCP 抗体检查中发现其在骨关节炎灵敏度高,仅次于(下转第 1527 页)

较^[12],所以临床使用多黏菌素治疗多耐药鲍曼不动杆菌感染应持谨慎态度。

通过对 MRSA 耐药性分析发现,MRSA 对青霉素 G 的耐药率为 100.00%,对红霉素、左旋氧氟沙星、苯唑西林、环丙沙星和克林霉素的耐药性均在 75.00%以上,但没有对利奈唑烷、万古霉素和替加环素耐药的菌株,说明这 3 种抗菌药物适合作为本院治疗 MRSA 时的首选药物。目前对 MRSA 的治疗,主要依赖万古霉素等糖肽类抗菌药物,但是已有研究报道金黄色葡萄球菌对万古霉素的最小抑菌浓度有增高趋势^[14],因此在利用此类药物治疗 MRSA 感染时,也应谨慎使用,避免诱导性耐药的形成。

多重耐药菌给临床治疗带来了巨大的医疗压力和挑战,临床上可选用的抗菌药物越来越少,寻找有效控制医院感染的措施迫在眉睫。医院应对多重耐药菌进行规范、连续的耐药监测,掌握病原菌的流行病学及抗菌药物耐药特性,更合理地指导临床用药;在日常的医疗活动中,严格按照多重耐药防控规范,对重点感染科室进行重点管理,实施严格的病房消毒隔离措施,积极控制耐药菌株的传播。

参考文献

[1] 陈雪华. 控制多耐药细菌医院感染任重道远[J]. 中国实用内科杂志, 2012, 20(4): 318-320.
 [2] Hwang S, Moon M, Kim S, et al. Neuroprotective effect of ghrelin is associated with decreased expression of prostate apoptosis response-4[J]. Endocr J, 2009, 56(4): 609-617.
 [3] 蒋利君, 黄志卓. 院内感染金黄色葡萄球菌分布和耐药性分析[J]. 检验医学与临床, 2013, 10(11): 1455-1456.
 [4] 叶应妩, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京:

东南大学出版社, 2006.

[5] Clinical and Laboratory Standards Institute. M100-S22 Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: twenty-second informational supplement[S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2012.
 [6] 汪复, 朱德妹, 胡付品, 等. 2008 年中国 CHINET 细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2009, 9(5): 321-329.
 [7] 林宇岚, 杨滨, 陈守涛, 等. 2008-2012 年福建省 5907 株鲍曼不动杆菌临床分布及耐药性分析[J]. 中国人兽共患病学报, 2014, 30(4): 383-386.
 [8] 肖永红, 沈萍, 魏泽庆, 等. Mohnarin 2011 年度全国细菌耐药监测[J]. 中华医院感染学杂志, 2012, 22(22): 4946-4952.
 [9] 杨自副, 陆琼慧, 朱晓燕. 某院 2010 年细菌耐药性监测结果[J]. 检验医学与临床, 2012, 30(22): 2824-2826.
 [10] 虞洪斌. 耐碳青霉烯类鲍曼不动杆菌感染分布监测与对策[J]. 浙江医学, 2013, 20(9): 801-802.
 [11] 徐一鸣, 王蓓, 蒋晓飞. 2008 年至 2012 年鲍曼不动杆菌临床感染分析及耐药特征分析[J]. 检验医学, 2014, 29(3): 245-248.
 [12] 李国钦. 耐碳青霉烯类鲍曼不动杆菌研究进展[J]. 中国感染控制杂志, 2008, 7(2): 140-143.
 [13] Montero A, Ariza J, Corbella X, et al. Efficacy of colistin versus beta-lactams, aminoglycosides, and rifampin as monotherapy in a mouse model of pneumonia caused by multiresistant Acinetobacter baumannii[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2002, 46(6): 1946-1952.
 [14] Sakoulas G, Moellering RC Jr. Increasing antibiotic resistance among methicillin-resistant Staphylococcus aureus strains[J]. Clin Infect Dis, 2008, 46(5): 360-367.

(收稿日期: 2015-01-18)

(上接第 1524 页)

RA 患者, RA 患者通常最早期临床症状基本都是骨关节炎、骨关节痛, 根据实验数据再证明抗 CCP 抗体作为 RA 一个早期诊断的指标, 可作为与其他风湿免疫性疾病鉴别诊断的一个依据。

综上所述, 抗 CCP 抗体的众多检测方法中, ELISA 法应用最广泛。ELISA 法经改进其特异度提高至 96%~98%, 但灵敏度(65%~70%)未见明显提高^[10]。CMIA 法是一种新型的检测分析技术, 由于操作智能化程度高、灵敏度高、特异度高, 且精密度和准确率均高于 ELISA 法, 检测灵活性高、快速, 检测试剂稳定并易于进行质量控制, 值得推广应用。Venrooi 等^[11]首次将化学发光法与 ELISA 法进行比较, 化学发光法最低检测限为 0.5 U/mL, 检测线性范围在 0.5~200 U/mL, 相当于 ELISA 法的 10 倍。选择一个好的检验方法检测抗 CCP 抗体, 提高血清学检出率, 对临床诊断 RA 有辅助作用。

参考文献

[1] Feldmann M, Brennan FM, Maini RN. The benefits of early treatment in rheumatoid arthritis: confounding by indication, and the issue of timing[J]. Arthritis Rheum 2003, 48(1): 1-5.
 [2] Lard LR, Visser H, Speyer I, et al. Early versus delayed treatment in patients with recent-onset rheumatoid arthritis: comparison of two cohorts who received different treatment strategies[J]. Am J Med, 2001, 111(6): 446-451.
 [3] Sghiri R, Bouagino E, Zaglapi H, et al. Diagnostic performances of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in rheumatoid arthri-

tis[J]. Rheumatol Internat, 2007, 27(12): 1125-1130.

[4] Schellekens GA, Visser H, de Jong BAW, et al. The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic eitrullinated peptide[J]. Arthritis Rheum, 2000, 43(3): 155-163.
 [5] 彭晓东, 李立新, 白杨娟, 等. 抗 CCP 抗体、AKA 及 RF 对类风湿性关节炎的诊断价值[J]. 四川大学学报: 医学版, 2006, 37(2): 317-318.
 [6] Shi J, van de Stadt LA, Levarht EW, et al. Anti-carbamylated protein (anti-CarP) antibodies precede the onset of rheumatoid arthritis[J]. Ann Rheum Dis, 2014, 73(4): 780-783.
 [7] 余秋云, 戴金华, 廖于峰. 直接化学发光法检测抗环瓜氨酸抗体的应用评估[J]. 中国卫生检验杂志, 2012, 22(4): 809-810.
 [8] 徐新蓉, 龚国富, 马萍, 等. ELISA 检测过程中影响因素及防控措施分析[J]. 国际医学检验杂志, 2013, 34(1): 112-113.
 [9] 房国祥, 吴云娟, 王书侠, 等. 应用生物素-链霉亲和素放大 ECLIA 系统检测抗环瓜氨酸肽抗体[J]. 临床检验杂志, 2009, 27(1): 20-23.
 [10] Tanaka R, Takemura M, Satom A, et al. Compison of chemiluminescence enzymeimmunoassay (CLEIA) with ELISA for the determination of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies[J]. Clinica Chimica Acta, 2010, 411(1/2): 22-25.
 [11] Venrooi WJ, Zendman AJ, Pruijng J, et al. Au-toantibodies toantibodies to citrullinated antigens in (early) rheuma toid arthritis [J]. Autoimmun Rev, 2006, 6(1): 37-41.

(收稿日期: 2015-02-15)