· 论 著 ·

ELISA 与胶体金免疫层析法检测血清抗 CCP 抗体在 RA 诊断中的比较*

田卫花^{1,2}, 马文媛², 李莎莎²

(1. 甘肃省中医药研究院, 甘肃兰州 730050; 2. 甘肃省中医院检验科, 甘肃兰州 730050)

摘要:目的 比较胶体金免疫层析法和酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血清抗环瓜氨酸肽(CCP)抗体结果差异性。方法 采用胶体金免疫层析法和 ELISA 法同步检测 110 例 RA 患者和 110 例健康体检者的抗 CCP 抗体。结果 2 种方法经配对 χ^2 检验, 差异有统计学意义($\chi^2=174.354, P<0.01$); $Kappa$ 值评价($K=0.890, P<0.01$)显示 2 种检测方法具有高度一致性。ELISA 法灵敏度和特异度分别为 83.64% 和 92.73%, 均优于胶体金免疫层析法。结论 2 种方法检测血清抗 CCP 抗体存在差异, ELISA 法的灵敏度和特异度均较高, 优于胶体金免疫层析法。

关键词:酶联免疫吸附试验; 抗环瓜氨酸肽抗体; 类风湿关节炎

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.11.020

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)11-1528-02

Comparison of ELISA and colloidal gold immunochromatographic assay for detection of serum anti-CCP antibody in the diagnosis of RA*

Tian Weihua^{1,2}, Ma Wenyan², Li Shasha²

(1. Traditional Chinese Medicine Institute of Gansu Province, Lanzhou, Gansu 730050, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Gansu Provincial TCM Hospital, Lanzhou, Gansu 730050, China)

Abstract: Objective To evaluate the diagnostic values of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and colloidal gold immunochromatographic assay in detecting serum anti-cyclic citrullinated peptide(anti-CCP) antibody. **Methods** Colloidal gold immunochromatographic assay and ELISA were used to detect serum anti-CCP antibody in 110 RA patients and 110 healthy cases. **Results** The data were analysed with the paired Chi-Square Test ($\chi^2 = 174.354, P < 0.01$), the difference was significant. The $Kappa$ value was 0.890 ($P < 0.01$), indicating that the coincidence between the two kinds of methods was good. The sensitivity, speciality of ELISA were 83.64% and 92.73% respectively. **Conclusion** In detecting serum anti-CCP Antibody, there was difference between colloidal gold immunochromatographic assay and ELISA according to statistics analysis. The sensitivity and speciality of ELISA were higher than those of colloidal gold immunochromatographic assay.

Key words: enzyme-linked immunosorbent assay; anti-cyclic citrullinated peptide antibody; rheumatoid arthritis

类风湿关节炎(RA)是一种以关节损伤为主的慢性全身性自身免疫疾病。RA患者致残率高,如不能够早期诊断、合理治疗,3年内关节破坏可达90.00%,进而造成永久性的关节畸形^[1]。最初本病诊断依据主要依靠1987年美国风湿病协会(ACR)的诊断分类标准,类风湿因子(RF)作为唯一的实验室参考指标,其阳性是诊断RA标准之一,但RF在RA中特异性较差,在临床中RF阴性的RA患者并不少见,常因RF阴性就排除RA诊断,导致了误诊的发生。随着实验室研究手段和技术的提高,国内外研究者证实抗环瓜氨酸肽(CCP)抗体在RA的诊断中有较高灵敏度和特异度^[2-4]。抗CCP抗体作为RA早期诊断和预测疾病进展等方面显示出良好的前景^[1,4]。2010年美国风湿病学会(ACR)和欧洲抗风湿联盟(EULAR)一起宣布将抗CCP抗体正式列入RA诊断标准之中^[5]。然而,现在临床实验室检测抗CCP抗体的方法颇多,主要有酶联免疫吸附试验(ELISA)法、胶体金免疫层析法、化学发光法、免疫荧光分析及电化学发光法等。但是化学发光法、免疫荧光分析及和电化学发光法试剂成本较高,且需要特殊仪器,因此,国内很多临床实验室采用ELISA和胶体金免疫层析法检测抗CCP抗体。本研究收集RA患者和体检健康者的血清标本检测血清抗CCP抗体,拟在分析2种方法间的差异,评价2种方法测定血清抗CCP抗体在RA诊断中的临床应用价值,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2012年10月至2014年3月甘肃省中医院风湿骨病科住院RA患者110例(RA组)和同期本院做健康体检的健康人员110例(非RA组),男80例,女140例,年龄25~70岁,平均(48.9±5.8)岁。RA患者其诊断符合美国风湿病协会(ACR)1987年修订的RA诊断标准,无严重肾功能损伤、甲状腺、甲状旁腺等疾病。同时抽取RA患者和健康体检者晨空腹静脉血3~5 mL,离心后血清标本储存于-70℃冰箱。

1.2 仪器与试剂 抗CCP抗体(ELISA法)试剂盒为欧洲诊断试剂公司产品,抗CCP抗体(胶体金免疫层析法)试剂盒为上海科新生物技术股份有限公司产品,均提供质控血清。芬兰雷勃MK2洗板机,雷杜RT-6100酶标分析仪。

1.3 方法

1.3.1 ELISA法 按试剂盒操作说明将患者血清进行1:50稀释,并按照操作说明依次加入A-E标准品、阴性、阳性对照、稀释后的患者血清,均做2个复孔。浓度大于25 U/mL定义为阳性结果。

1.3.2 胶体金免疫层析法 按试剂盒操作说明将血清样本逐滴滴入加样孔中,大约4滴,5~8 min时判读试验结果。

1.4 统计学处理 采用SPSS19.0统计软件进行数据处理与统计分析,计数资料以例数表示,组间比较采用配对 χ^2 检验;一致性检验采用 $Kappa$ 检验方法完成,当 $0.81 \leq K \leq 1.00$ 时,

* 基金项目:甘肃省卫生行业科研计划管理资助项目(GWGL2013-1)。 作者简介:田卫花,女,主管检验师,主要从事自身抗体检测和肿瘤免疫的研究。

证明两个产品测定结果具有高度一致性;当 $0.61 \leq K < 0.81$ 时,证明两个产品测定结果具有中度一致性;当 $0.41 \leq K < 0.61$ 时,证明两个产品测定结果间一致性较弱;当 $0.21 \leq K < 0.41$ 时,证明两个产品测定结果间一致性微弱;当 $0.00 \leq K < 0.21$ 时,证明两个产品测定结果间一致性极差^[6]。计算公式:灵敏度=检测阳性例数/真阳性例数;特异度=检测阴性例数/真阴性例数^[7-8]。

2 结 果

2.1 2 种检验方法检测结果的比较 胶体金免疫层析法和 ELISA 法对 220 例标本检测结果的比较,差异有统计学意义 ($\chi^2 = 174.354, P < 0.01$), 结果见表 1。

表 1 胶体金免疫层析法和 ELISA 法对 220 例标本的检测结果 (n)

胶体金免疫层析法	ELISA 法		合计
	阳性(+)	阴性(-)	
阳性(+)	92	4	96
阴性(-)	8	116	124
合计	100	120	220

2.2 2 种检验方法的检测结果与临床确诊数对比分析 检测结果中临床确诊阳性(RA 组)110 例,胶体金免疫层析法检出阳性 85 例,25 例假阴性;ELISA 法检出阳性 92 例,18 例为假阴性。健康体检者(非 RA 组)110 例,胶体金免疫层析法阴性例数 99 例,11 例假阳性;ELISA 法阴性例数 102 例,8 例假阳性,结果见表 2。依据表 2 数据计算该 2 种检测方法的灵敏度和特异度。ELISA 法灵敏度达 83.64%, 优于胶体金免疫层析法灵敏度 77.27%;ELISA 特异度为 92.73%, 优于胶体金免疫层析法特异度 90.00%。经 *Kappa* 检验,2 种检测方法具有高度一致性($K = 0.890, P < 0.01$)。

表 2 胶体金免疫层析法和 ELISA 法检测结果与临床确诊数的情况 (n)

临床确诊	胶体金免疫层析法		ELISA 法	
	阳性(+)	阴性(-)	阳性(+)	阴性(-)
RA 组	85	25	92	18
非 RA 组	11	99	8	102

3 讨 论

RA 是一种以周围关节受损为主的慢性自身免疫病,是最常见的炎性关节疾病之一。RA 的特征表现为对称性、慢性、进行性多关节炎并伴有全身多系统受累^[9]。抗 CCP 抗体阳性与阴性患者在临床表现上有所不同。Forslind 等^[10]研究发现,抗 CCP 抗体阳性者 2 年后关节更容易出现影像学改变。Meyer 等^[11]研究结果显示,191 例抗 CCP 抗体阳性的患者 5 年后总 Sharp 评分增加的可能性明显高于单纯 RF 阳性患者。Rönnelid 等^[12]研究表明,早期抗 CCP 阳性 RA 患者,近 5 年内发展为严重关节损伤的可能性要大大高于抗 CCP 阴性患者。因此,对于 RA 患者,检测其血清抗 CCP 抗体具有重要的意义与价值。

目前,随着对抗 CCP 抗体临床应用价值的研究深入,市场上已出现了 ELISA、胶体金免疫层析法、化学发光法、免疫荧光分析法及电化学发光法等抗 CCP 抗体检测试剂盒,其中化学发光法和电化学发光法以快速、全自动化、特异度及稳定性高等特点引起广泛关注,但是需要特殊的仪器,成本较高,不适合基层医院开展。ELISA 和胶体金免疫层析法操作简单,不

需特殊仪器设备,适合大多数实验室开展此检测项目。

本研究采用 ELISA 和胶体金免疫层析法 2 种方法测定 220 例血清抗 CCP 抗体结果并进行详细分析,评价 2 种方法间的差异性及一致性,旨在探讨 ELISA 和胶体金免疫层析法在 RA 患者中的应用价值。结果发现 2 种方法检测抗 CCP 抗体差异有统计学意义 ($\chi^2 = 174.354, P < 0.01$)。

综上所述,ELISA 法在多方面均优于胶体金免疫层析法。这也可能由于 ELISA 法在开始检测前将患者血清以 1:50 稀释,从一定程度上避免了前带效应的发生,胶体金免疫层析法直接用原倍患者血清检测,抗原抗体比例不适及前带效应更容易出现,进而影响试验结果的准确性。但是 ELISA 法操作略为繁琐,耗时也较长,相反胶体金免疫层析法更为快速、方便,尤其适合基层或偏远地区医院。鉴于目前抗 CCP 抗体有多种检测方法,且不同方法学间存在差异^[1],建议实验室根据自己的实验条件选择试验方法,在发放检验结果时最好注明检测方法。对于检验结果与临床症状不符的,建议采用灵敏度、特异度更高的方法检测以明确诊断。

参考文献

- [1] 康霞,李欣,杨春莉,等. ECLIA、CMIA、ELISA 3 种方法测定血清抗 CCP 抗体在 RA 诊断中的应用[J]. 重庆医学,2014,43(11):1290-1292.
- [2] Schellekens GA, Visser H, de Jong BA, et al. The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide[J]. Arthritis Rheum, 2000,43(1):155-163.
- [3] Visser H, Te Cessie S, Vos K, et al. How to diagnose rheumatoid arthritis early: a prediction model for persistent (erosive) arthritis[J]. Arthritis Rheum, 2002,46(2):357-365.
- [4] 曾小峰,艾脉兴,甘晓丹,等. 抗环瓜氨酸肽抗体检测在类风湿关节炎中的意义[J]. 中华风湿病学杂志,2001,5(5):281-284.
- [5] Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, et al. 2010 rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism Collaborative Initiative[J]. Ann Rheum Dis, 2010,69(9):1580-1588.
- [6] 贾淑芳,周琳瑯,裴莉,等. 探讨抗 CCP 抗体在类风湿关节炎诊断中的临床价值[J]. 中国实验诊断学,2014,18(3):420-422.
- [7] 田卫花,李芳娟,文建强,等. MLCT 和 ELISA 法检测 HLA-B27 的比较[J]. 国际检验医学杂志,2013,34(10):2583-2585.
- [8] 朱美玲,罗伟琼,邹翠贤,等. HLA-B27 3 种检测方法的比较[J]. 中国卫生检验杂志,2007,17(7):1251-1252.
- [9] 刘童,李兴锐,徐胜前. 抗环瓜氨酸肽抗体和类风湿因子双阳性类风湿关节炎患者临床资料分析[J]. 中华临床医师杂志,2013,7(22):9967-9971.
- [10] Forslind K, Ahlmén M, Eberhardt K, et al. Prediction of radiological outcome in early rheumatoid arthritis in clinical practice: role of antibodies to citrullinated peptides (anti-CCP)[J]. Ann Rheum Dis, 2004,63(1):1090-1095.
- [11] Meyer O, Labarre C, Dougados M, et al. Anticitrullinated protein/peptide antibody assays in early rheumatoid arthritis for predicting five year radiographic damage[J]. Ann Rheum Dis, 2003,62(2):120-126.
- [12] Rönnelid J, Wick MC, Lampa J, et al. Longitudinal analysis of citrullinated protein/peptide antibodies (anti-CP) during 5 year follow up in early rheumatoid arthritis: anti-CP status predicts worse disease activity and greater radiological progression[J]. Ann Rheum Dis, 2005,64(1):1744-1749.