

## • 检验仪器与试剂评价 •

## 微粒子化学发光法检测抗环瓜氨酸肽抗体诊断试剂的诊断效能评价

殷波涛<sup>1</sup>, 周明权<sup>2</sup>, 詹晶晶<sup>1</sup>, 陆捷<sup>1</sup>, 吴士及<sup>1△</sup>(1. 华中科技大学同济医学院附属同济医院检验科, 湖北武汉 430030;  
2. 湖北省广水市第二人民医院检验科, 湖北广水 432700)

**摘要:**目的 评价 1 种新的微粒子化学发光法(CMIA)抗环瓜氨酸肽抗体(抗 CCP)试剂的诊断性能。方法 用雅培 ARCHITECT CMIA 法抗 CCP 抗体试剂检测 554 例样本的抗 CCP 抗体, 评价其诊断性能。结果 450 例类风湿性关节炎(RA)患者中 397 例抗 CCP 抗体阳性, 诊断灵敏度为 88.2%。104 例对照样本中 12 例抗 CCP 抗体阳性, 诊断特异度为 88.5%。类风湿因子(RF)和抗角蛋白抗体(AKA)对 RA 的诊断灵敏度分别为 80.2%(361/450)和 60.3%(210/348), 特异度分别为 56.7%(59/104)和 96.9%(94/97)。抗 CCP 抗体含量大于 19.3 U/mL 时, 诊断 RA 的灵敏度和特异度分别为 77.1% 和 95.3%。结论 CMIA 法抗 CCP 抗体对 RA 的诊断性能优于 RF 和 AKA。抗 CCP 抗体含量较高时, 对 RA 的诊断特异度更高。

**关键词:**抗环瓜氨酸肽抗体; 关节炎, 类风湿; 微粒子化学发光法**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2012.20.046**文献标识码:**A**文章编号:**1673-4130(2012)20-2537-03

类风湿关节炎(RA)是以关节滑膜慢性、进行性炎症损害为特征, 进行性及侵蚀性的关节炎为主要临床表现的慢性致残性自身免疫性疾病, 是造成我国丧失劳动力和致残的主要原因之一。我国 RA 的发病率约为 0.35%~0.4%, 并且每年增加患者约 4 百万之多<sup>[1]</sup>。RA 的诊断主要依据临床症状、影像学检查以及实验室相关自身抗体的检测等。其中常用的自身抗体检测包括类风湿因子(RF)、抗角蛋白抗体(AKA)、抗环瓜氨酸肽(CCP)抗体、抗核周因子抗体(APF)以及抗 RA33 抗体等。其中抗 CCP 抗体对于 RA 的诊断效能优于其他检测指标, 目前抗 CCP 抗体的主要检测方法是 ELISA。微粒子化学发光法(CMIA)抗 CCP 抗体诊断试剂是近年来发展的一种新的抗 CCP 抗体检测试剂, 与 ELISA 相比在检测自动化、结果重复性上有着明显的方法学优势。因此, 笔者评价了在常规实验室条件下 CMIA 法抗 CCP 抗体诊断试剂对 RA 的诊断效能, 并与 RF 和 AKA 进行比较分析。

**1 资料与方法**

**1.1 一般资料** 2010 年 6 月至 2011 年 9 月来本院就诊的 534 例患者样本(450 例 RA 患者、33 例非 RA 自身免疫性疾病患者和 51 例感染、肿瘤以及其他疾病术后患者)及 20 例健康者血清作为健康对照组。

**1.2 仪器与试剂** 抗 CCP 抗体采用美国雅培 i2000 全自动化学发光仪及配套雅培 ARCHITECT ANTI-CCP 试剂盒检测; RF 使用德国西门子 BNTM II 全自动血浆特定蛋白分析系统检测; AKA 使用德国欧蒙间接免疫荧光法(IFA)诊断试剂检测。所有试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 方法** 根据临床诊断并与 RF、AKA 等指标比较分析, 评价该雅培 ARCHITECT CMIA 法抗 CCP 抗体诊断系统的诊

断性能。

**1.4 统计学处理** 使用 ROC 曲线分析各实验室指标对 RA 的诊断效能, 并确定雅培 ARCHITECT 抗 CCP 抗体试剂诊断特异度大于或等于 95% 的阈值。统计软件使用 GraphPad Prism 5 for Windows(5.01 版)。

**2 结 果**

534 例患者样本包含 450 例类风湿关节炎(RA)(116 例男性, 334 例女性; 年龄 13~89 岁, 中位年龄 48 岁), 33 例非 RA 自身免疫性疾病(5 例男性, 28 例女性; 年龄 17~75 岁, 中位年龄 46 岁), 51 例感染、肿瘤以及其他疾病术后患者(21 例男性, 30 例女性; 年龄 12~83 岁, 中位年龄 48 岁)。健康对照组共 6 例男性, 14 例女性, 年龄 15~77 岁, 中位年龄 48 岁。

450 例 RA 患者中雅培 ARCHITECT CMIA 法检测抗 CCP 抗体阳性为 397 例, 诊断灵敏度为 88.2%。33 例非 RA 自身免疫性疾病组中抗 CCP 抗体阳性率为 24.2%(8/33), 51 例感染、肿瘤以及其他疾病术后患者组中抗 CCP 抗体阳性率为 7.8%(4/51), 健康对照组中未检出抗 CCP 抗体阳性(0/20), 3 组非 RA 组共 104 例样本检测抗 CCP 抗体阳性为 12 例, 故诊断特异度为 88.5%(92/104)。而 RF 和 AKA 对 RA 的诊断灵敏度和特异度分别为 80.2%(361/450)、56.7%(59/104)和 60.3%(210/348)、96.9%(94/97)。见表 1。

抗 CCP 抗体含量在 RA 患者组、非 RA 自身免疫性疾病组、感染或肿瘤以及其他疾病术后患者组、健康对照组中的 M(P25~P75), 见表 2。抗 CCP 抗体和 RF 的 ROC 曲线下面积分别为 0.910、0.804, 见图 1。根据 ROC 曲线分析, 当抗 CCP 抗体的含量大于 19.3 U/mL 时, 其诊断 RA 的灵敏度和特异度分别为 77.1% 和 95.3%。

**表 1 各组样本抗 CCP 抗体、RF 及 AKA 结果**

分组	抗 CCP 抗体			RF			AKA		
	+	-	合计	+	-	合计	+	-	合计
RA	397	53	450	361	89	450	210	138	348*
非 RA 自身免疫性疾病	8	25	33	20	13	33	1	29	30*

△ 通讯作者, E-mail: wilson547@163.com。

续表1 各组样本抗 CCP 抗体、RF 及 AKA 结果

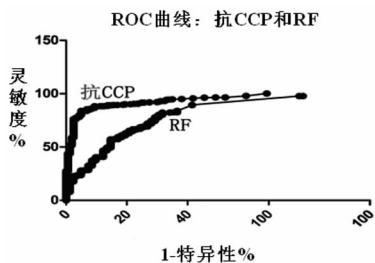
分组	抗 CCP 抗体			RF			AKA		
	+	-	合计	+	-	合计	+	-	合计
感染、肿瘤等	4	47	51	24	27	51	2	45	47*
健康对照	0	20	20	1	19	20	0	20	20
非 RA 组合计	12	92	104	45	59	104	3	94	97
特异度		88.5%			56.7%			96.9%	
敏感度		88.2%			80.2%			60.3%	

\*: 共有 109 例样本由于血清量不足, 未检测 AKA。

表2 各组中的抗 CCP 抗体含量[M(P25~P75)]

项目	RA 组	非 RA 自身免疫性疾病组	感染或肿瘤患者组	健康对照组
抗 CCP 抗体(U/mL)	105.4(24.0~425.8)*	3.3(1.7~5.4)	1.7(1.3~3.0)	1.6(1.2~3.2)

\*: 与其他三组间比较,  $P < 0.001$ 。



抗 CCP 抗体和 RF 的 ROC 曲线下面积分别为 0.910, 0.804。

图1 抗 CCP 抗体与 RF 对 RA 的诊断效能比较(ROC 曲线)

### 3 讨 论

抗 CCP 抗体对于 RA 的诊断具有很高的特异度, 并且灵敏度与 RF 相当<sup>[1]</sup>。近年来发展的化学发光法抗 CCP 抗体检测试剂相对于传统的 ELISA 具有检测重复性好、精密度高、稳定性好且全自动化检测等优势<sup>[2-3]</sup>。美国雅培的 ARCHITECT 抗 CCP 抗体试剂是一种全自动分析的微粒子酶免疫化学发光法(CMIA)试剂, 具有很高的检测灵敏度和特异度。因此笔者评价了所在实验室使用的雅培 ARCHITECT 抗 CCP 抗体试剂在常规条件下的临床检测性能。

由表 1 可以得出雅培 ARCHITECT 抗 CCP 抗体试剂对于 RA 的诊断灵敏度为 88.2%, 较 RF(80.2%)和 AKA(60.3%)高; 诊断特异度为 88.5%, 明显优于 RF(56.7%), 但略低于 AKA(96.9%)。而与近十年来 ELISA 法检测抗 CCP 抗体的研究数据(灵敏度: 65%~66%, 特异度: 95%~96%)相比<sup>[1]</sup>, 雅培 CMIA 法抗 CCP 抗体诊断系统的灵敏度较高, 但特异度略低。从 ROC 曲线可以得出抗 CCP 抗体对 RA 的诊断效能优于 RF, 这与国内外的相关研究结论相同<sup>[1-5]</sup>。且 RA 组的抗 CCP 抗体含量明显高于非 RA 的其他疾病组, 当抗 CCP 抗体的含量大于 19.3 U/mL 时, 其诊断 RA 的灵敏度和特异度分别为 77.1% 和 95.3%, 即在保证较高的诊断灵敏度的同时达到了很高的诊断特异度。因此当抗 CCP 抗体含量较高时将有助于鉴别诊断 RA 和非 RA 的其他炎性疾病。AKA 对 RA 的诊断同样具有很高的特异度, 但由于其诊断灵敏度较低, 约 40% 的 RA 患者血清中 AKA 阴性, 故当 AKA 检测阴性时漏诊 RA 的可能性较大。

本研究显示非 RA 自身免疫性疾病组中抗 CCP 抗体的阳性率较高(24.2%), 并且在一些慢性感染患者中也有一定的阳

性率(7.8%); 然而 RF 阳性率分别为 60.6%(20/33)和 47.1%(24/51), 明显高于抗 CCP 抗体的结果。Sauerland 等<sup>[6]</sup>的研究显示了同样的结果, 在系统性红斑狼疮(SLE)、干燥综合征(SS)以及慢性肝炎患者中抗 CCP 抗体的阳性率分别为 12.7%、3.3% 和 1.3%, 而 RF 分别为 18.3%、73.3% 和 24.7%。此外, Horrillo 等<sup>[7]</sup>在特发性肌炎患者中检测抗 CCP 抗体阳性率为 13.3%(12/90)。Mignot-Grootenberg 等<sup>[8]</sup>在 SS 中同样发现了 15% 的抗 CCP 抗体阳性率, 并认为抗 CCP 抗体与 SS 之间存在相关性。尹耕等<sup>[9]</sup>在混合性结缔组织病(MCTD)患者中检测抗 CCP 抗体的阳性率为 15.8%。而在自身免疫性肝炎<sup>[10]</sup>、银屑病关节炎<sup>[11]</sup>以及活动性肺结核患者<sup>[12]</sup>中同样可检出抗 CCP 抗体。因此对存在上述疾病的患者诊断 RA 应更加谨慎。然而另一方面, 由于 RA 患者出现相关临床症状前几年时血清中即可检出抗 CCP 抗体<sup>[13]</sup>, 并且抗 CCP 抗体对于早期 RA 以及骨关节损伤具有预示作用<sup>[14-16]</sup>。因此, 对于抗 CCP 抗体阳性的非 RA 疾病的患者不能完全排除 RA 的可能, 通过长期的临床随访以及结合其他实验室指标(如 IgM 型 RF、AKA 等)可增加识别早期的 RA 的可能性<sup>[17]</sup>。

综上所述, 雅培 ARCHITECT 抗 CCP 抗体(CMIA)诊断系统对 RA 的临床诊断效能优于 RF 或 AKA 等指标, 尤其是抗 CCP 抗体含量较高时, 特异度可与 AKA 相当。对于抗 CCP 抗体阳性(尤其是高含量时)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。

### 参考文献

- [1] Gao F, Ren L, Zhang CQ, et al. Diagnostic value of anti-cyclic citrullinated peptide antibody for rheumatoid arthritis in a Chinese population: a meta-analysis. *Rheumatol Int*, 2012, 32(10): 3201-3218.
- [2] Tanaka R, Takemura M, Sato M, et al. Comparison of chemiluminescence enzyme immunoassay(CLEIA) with ELISA for the determination of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies[J]. *Clin Chim Acta*, 2010, 411(1-2): 22-25.
- [3] Cai B, Wang L, Liu J, et al. Performance evaluation of Elecsys analysis system for anti-cyclic citrullinated peptide detection in comparison with commercially available ELISA assays in rheumatoid arthritis diagnosis[J]. *Clin Biochem*, 2011, 44(12): 989-993.
- [4] 杨春莉, 裴宇容, 周芳, 等. 对比检测血清中抗环瓜氨酸肽抗体水

- 平对类风湿关节炎的诊断价值[J]. 南方医科大学学报, 2007, 27(8).
- [5] Cho SY, Kang SY, Lee HJ, et al. A Comparative Evaluation of the Diagnostic Value of Anti-cyclic Citrullinated Peptide and Rheumatoid Factor in Rheumatoid Arthritis[J]. Korean J Lab Med, 2008, 28:39-45.
- [6] Sauerland U, Becker H, Seidel M, et al. Clinical Utility of the Anti-CCP Assay Experiences with 700 Patients[J]. Ann NY Acad Sci, 2005, 1050:314-318.
- [7] Labrador-Horillo M, Martinez MA, Selva-O'Callaghan A, et al. Anti-cyclic citrullinated peptide and anti-keratin antibodies in patients with idiopathic inflammatory myopathy[J]. Rheumatology, 2009, 48(6):676-679.
- [8] Mignot-Grootenberg S, Coh en-Solal J, Desmoulins F, et al. 15% prevalence of anti cyclic citrullinated peptide(CCP) antibodies in patients with primary Sjögren's syndrome[J]. Arthritis Rheum, 2003, 48(Suppl):S569.
- [9] 尹耕, 岑筱敏, 杨闵, 等. 抗环瓜氨酸肽抗体在混合性结缔组织病中的检测及意义[J]. 四川大学学报: 医学版, 2011, 42(3):374-377.
- [10] Fusconi M, Vannini A, Dall'Aglio AC, et al. Anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in type 1 autoimmune hepatitis[J]. Aliment Pharmacol Ther, 2005, 22(10):951-955.
- [11] Vander Cruyssen B, Hoffman IE, Zmierczak H, et al. Anti-citrullinated peptide antibodies may occur in patients with psoriatic ar-
- 检验仪器与试剂评价 •
- thritis[J]. Ann Rheum Dis, 2005, 64(8):1145-1149.
- [12] Elkayam O, Segal R, Lidgi M, et al. Positive anti-cyclic citrullinated proteins and rheumatoid factor during active lung tuberculosis [J]. Ann Rheum Dis, 2006, 65(8):1110-1112.
- [13] Rantapää-Dahlqvist S, de Jong BA, Berglin E, et al. Antibodies against citrullinated peptides and IgA rheumatoid factor predict the development of rheumatoid arthritis[J]. Arthritis Rheum, 2003, 48:2741-2749.
- [14] Meyer O, Labarre C, Dogados 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.
- [15] Shidara K, Inoue E, Hoshi D, et al. Anti-cyclic citrullinated peptide antibody predicts functional disability in patients with rheumatoid arthritis in a large prospective observational cohort in Japan[J]. Rheumatol Int, 2012, 32(2):361-366.
- [16] 岳涛, 程鹏, 范晓蕾, 等. 抗环瓜氨酸肽抗体和关节磁共振成像对早期类风湿关节炎的意义[J]. 中华医学杂志, 2011, 91(23):1633-1636.
- [17] Vencovsky J, Machácek S, Sedová L, et al. Autoantibodies can be prognostic markers of an erosive disease in early rheumatoid arthritis[J]. Ann Rheum Dis, 2003, 62(5):427-430.

(收稿日期: 2012-06-09)

## 电化学发光免疫法检测降钙素原的空白限、检出限和功能灵敏度的评价<sup>\*</sup>

黄燕华, 张秀明<sup>△</sup>, 王伟佳, 温冬梅, 欧阳能良, 慕月晶, 阎丽娟, 严海忠, 胡婷  
(中山大学附属中山医院检验医学中心, 广东中山 528403)

**摘要:** 目的 对 Roche Cobas E601 全自动电化学发光免疫检测系统检测降钙素原(PCT)的检测限值和功能灵敏度(FS)进行评价。方法 参照美国临床和实验室标准化协会(CLSI)EP-17A 文件, 将空白样品生理盐水及系列低浓度样品在 Roche Cobas E601 全自动电化学发光免疫检测系统进行检测, 确定该方法的空白限(LoB)、检出限(LoD)和 FS。结果 PCT 的 LoB 为 0.029 ng/mL, LoD 为 0.068 ng/mL, FS 为 0.034 ng/mL。结论 建立了 Roche Cobas E601 全自动电化学发光仪 PCT 的 LoB, LoD 和 FS, 其分析灵敏度性能指标符合厂商提供的性能指标。为临床诊断和治疗提供了更有价值的信息。

**关键词:** 降钙素原; 电化学发光免疫测定; 空白限; 检出限; 功能灵敏度

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2012.20.047

文献标识码:A

文章编号: 1673-4130(2012)20-2539-03

降钙素原(PCT)作为具有全身反应的细菌感染的指标, 可以判断感染的严重程度、治疗效果和预后, 因此在许多临床领域已得到广泛应用<sup>[1]</sup>。为了保证患者检验结果的可靠性, 为临床提供更好的参考价值。本研究参考了美国临床与实验室标准化协会(CLSI)EP-15A2 文件和 EP-17A 文件对 Roche Cobas E601 全自动电化学发光仪 PCT 检测的精密度进行评价<sup>[2-3]</sup>, 旨在确立其空白限(LoB)、检出限(LoD)和功能灵敏度(FS)。

### 1 材料与方法

**1.1 试剂与仪器** Roche 公司 Cobas E601 全自动电化学发光分析仪及配套 PCT 检测试剂盒(批号: 162192), 配套校准品(批号: 162192)及两个水平质控品(批号: 161953、161954), 耗材由罗氏公司原装配套提供。

**1.2 方法** 按操作说明书要求每天对仪器进行维护保养、质

量控制, 并执行定期校准, 仪器在控后方可检测样品。

**1.2.1 LoB 的确定** 生理盐水作空白样品, 每天检测 2 批, 每批检测 6 次, 共进行 5 d, 共获得 60 个结果。设定  $\alpha=5\%$ , 即 LoB 有 5% 的可能性含有待测物。采用非参数检验, 将空白样品的结果由小到大排序, 第 95 百分位数值即为 LoB。

**1.2.2 LoD 的确定** 参照 CLSI EP-17A 文件, 在确定 LoD 时, 样本检测的标准差来自多个低浓度样品的重复检测, 样品的浓度范围在 LoB 的 1~4 倍之间。因此收集 PCT 浓度分别为 0.03、0.04、0.05、0.06、0.08、0.10 ng/mL 的新鲜患者血清标本足量, 要求外观澄清, 无溶血、黄疸、脂血, 离心后取上清液分装 10 管, 置 -70 ℃ 冰箱冰冻保存, 用以确定 LoD 和 FS。所有检测限样品每天静置复融时间一致且在 30 min 内完成检测。每天各检测 1 批, 每批检测 2 次, 共进行 5 d, 共获得 60 个

\* 基金项目: 广东省医学科研基金课题(A2009763); 中山市科技局资助课题(20091A038)。 △ 通讯作者, E-mail: zxm0760@163.com。