

• 检验技术与方法 •

电化学发光法检测抗环瓜氨酸肽抗体的临床应用评价

李珍萍¹, 郭庆昕², 林宜昭¹

(1. 福建省德化县医院检验科, 福建德化 362500; 2. 泉州市正骨医院检验科, 福建泉州 362000)

摘要:目的 比较增强化学发光酶联免疫分析(ECLIA)法和酶联免疫吸附测定(ELISA)法检测抗环瓜氨酸肽(CCP)抗体的相关性,评价 ECLIA 定量检测试剂盒的性能。方法 将 87 例类风湿关节炎(RA)患者作为 RA 组;另选择强直性脊柱炎患者 35 例,干燥综合征患者 5 例,骨性关节炎患者 25 例,系统性红斑狼疮患者 3 例,痛风患者 12 例作为疾病对照组;正常对照组为健康体检人群。将疾病对照组和正常对照组儿童的血清合为对照组,分别采用 ELISA 检测试剂盒及 ECLIA 检测 215 份血清标本的抗 CCP 抗体。结果 ECLIA 法试剂盒的敏感度为 71.26%,特异 97.66%;ELISA 法试剂盒敏感度为 68.97%,特异性 96.88%。分两种方法测定 215 份血清标本,2 种方法检测均为阳性的患者有 61 例,均为阴性的有 147 例。二者检测结果的总体符合率为 96.74%。2 种方法间有显著相关性($P<0.005$)。结论 ECLIA 法检测抗 CCP 抗体试剂盒与 ELISA 法试剂盒检测结果的相关性良好。

关键词:抗环瓜氨酸肽抗体; 酶联免疫吸附测定; 增强化学发光酶联免疫分析; 评价

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.21.043 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2013)21-2882-02

类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种以关节软骨慢性进行性侵蚀为早期特征的全身性自身免疫性疾病,以慢性、对称性、多滑膜关节炎和关节外病变为主要临床表现。滑膜炎持续反复发作可导致关节内软骨和骨的破坏,继而引起关节畸形而成为该病的标志。目前,RA 的治疗策略主要是改善疾病早期的关节侵蚀,因而早期诊断显得尤为重要。抗环瓜氨酸肽(cyclic citrullinated peptide, CCP)抗体是目前临床使用最广泛的 RA 早期诊断的自身抗体。第 1 代抗 CCP 抗体检测采用酶联免疫吸附测定(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)法,但是该方法具有检测灵敏度、精密度都相对较低,较难采用仪器自动化,整个检测过程所需时间较长,手工影响因素较多等缺点。近年出现的增强化学发光酶联免疫分析(enhanced chemiluminescence enzyme immunoassay, ECLIA)检测抗 CCP 抗体的全自动检测试剂盒,弥补了 ELISA 法检测的不足,实现了灵活、快速,检测试剂稳定,易于质量控制等优点。本研究拟评价 ECLIA 法全自动试剂的性能,为该试剂的临床应用提供技术支持。

1 资料与方法

1.1 一般资料 所有病例均来自 2011 年 12 月至 2012 年 7 月于泉州市正骨医院风湿科门诊和住院患者,其中,RA 患者 87 例(RA 组),其中,男 23 例,女 64 例;年龄 29~75 岁,平均(48.6±15.6)岁,均符合 1987 年美国风湿协会修订的 RA 分类标准。另选择强直性脊柱炎患者 35 例,干燥综合征患者 5 例,骨性关节炎患者 25 例,系统性红斑狼疮患者 3 例,痛风患者 12 例作为疾病对照组,均符合相应国际诊断标准,其中,男 42 例,女 38 例;年龄 19~67 岁,平均(40.1±20.6)岁。正常对照组选择德化县医院健康体检人群,其中,男 26 例,女 22 例;年龄 18~72 岁,平均(45.1±16.7)岁。疾病对照组和正常对照组患者的血清作为对照组。

1.2 标本采集 所有研究对象均于清晨空腹用真空采血管抽取静脉血 4 mL,并于 30 min 内以 3 000 r/min 离心 10 min,分离血清后置于-45℃冰箱保存,一次溶解后测定。

1.3 主要试剂与仪器 抗 CCP 抗体 ELISA 法检测试剂盒由德国欧蒙医学实验诊断有限公司提供,批号为 E112517AD,在瑞士 TECAN 酶标仪上检测。ECLIA 法抗 CCP 抗体检测试剂由罗氏诊断产品有限公司提供,批号为 1696801,在瑞士罗氏

(Roche)公司 Elecsys2010 全自动电化学发光免疫分析仪上检测。

1.4 结果判定 数据检测结果定性判断标准参照试剂说明书,≥17 U/mL 为阳性,<17 U/mL 为阴性。

1.5 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件进行统计学分析,计数资料用 χ^2 检验,率比较采用 χ^2 检验,相关分析应用 Pearson 相关系数法,以 $\alpha=0.05$ 为检验水准,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ECLIA 法和 ELISA 法检测抗 CCP 抗体的灵敏度和特异性 收集 87 例 RA 患者血清,评价 2 种试剂盒的灵敏度及特异性。ECLIA 法试剂盒的敏感度为 71.26%,特异性 97.66%;ELISA 法试剂盒敏感度为 68.97%,特异性 96.88%,见表 1。

表 1 ECLIA 法和 ELISA 法检测抗 CCP 抗体的灵敏度和特异性

组别	检测结果(<i>n</i>)			灵敏度 (%)	特异性 (%)
	阳性	阴性	合计		
RA 组					
ECLIA 法	62	25	87	71.26	—
ELISA 法	60	27	87	68.97	—
对照组					
ECLIA 法	3	125	128	—	97.66
ELISA 法	4	124	128	—	96.88

—:此项目无数据。

2.2 ECLIA 法和 ELISA 法检测抗 CCP 抗体相关性分析 本研究分别用 ECLIA 法和 ELISA 法同时测定 215 份血清标本,2 种方法检测均为阳性的患者有 61 例,均为阴性的有 147 例。两种方法检测结果的总体符合率为 96.74%[总体符合率(%)=2 种方法均为阳性与均为阴性例数的和/总样本数×100%]。经 χ^2 检验,提示 2 种方法间有显著相关性($P<0.005$)。

3 讨论

RA 是一种危害人们健康的常见病,在自身免疫性结缔组织病中其患病率居首位,该病如不能及时诊断和治疗,既可发展为关节僵直、畸形、致残而严重影响劳动力。长期以来,RA

的临床诊断缺乏特异性实验室指标,所以国际上通用的美国风湿病学诊断标准中主要以临床症状和 X 线诊断为主,从而导致 RA 漏诊和误诊^[1-3]。自从 2000 年抗 CCP 抗体被发现以来,国内、外学者对其检测方法和临床应用进行了多方面的评估,证实其对 RA 的早期诊断具有很好的敏感性和特异性^[4-8]。

随着抗 CCP 抗体临床应用价值的日渐清晰,对其检测手段的准确性和高效性提出了新的要求。ECLIA 是一种在电极表面由电化学引发的特异性化学发光反应技术,包括了电化学和化学发光 2 个部分,目前都是采用发光技术与免疫反应和计算机技术相结合的自动化仪器分析,由于其操作的智能化程度高、敏感度高、特异性强,特别是检测灵敏度高、快速、检测试剂稳定并易于进行质量控制,已在很多免疫检测项目中逐步取代了 ELISA 法^[9]。

本研究以较早上市且已广泛应用于临床的欧蒙 ELISA 检测试剂盒为参比试剂,对 Roche ECLIA 试剂进行了相关性、一致性分析。ECLIA 试剂盒与 ELISA 试剂盒的灵敏度、特异性相近,2 种试剂的总体符合率达 96.74%,且 2 种检测试剂的相关性良好。因此,ECLIA 法可,弥补 ELISA 法的不足,成为新一代抗 CCP 抗体检测方法。

参考文献

[1] 贺联印,栗占国. 类风湿性关节炎的自身免疫异常及研究进展

• 检验技术与方法 •

[J]. 复星诊断,2003,1(3):12-19.

[2] 蔡文虹,孙保东,张宝凤,等. 类风湿性关节炎病因学概述[J]. 中国当代医药,2012,19(5):11-12.

[3] 古洁若. 类风湿性关节炎研究进展[J]. 实用医学杂志,2005,21(13):1367.

[4] Schellekens GA, Visser H, de Jong B, et al. The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recogniz acyclic citullinatde peptide[J]. Arthritis Rheum,2000,43(1):155-163.

[5] Bizzaro N, Mazzanti G, Tonutti E, et al. Diagnostic accuracy of the anti-citrulline antibody assay for rheumatoid arthritis [J]. Clin Chem,2001,47(6):1089-1093.

[6] 许超尘,饶华春,游玉权,等. 联合检测 AKA、抗 CCP 抗体与 RF 在类风湿性关节炎诊断中的应用[J]. 中国现代医药杂志,2007,9(11):43-45.

[7] 范列英. 类风湿性关节炎血清早期诊断指标的研究进展[J]. 中华检验医学杂志,2003,26(10):632-634.

[8] 顾映丽,吕玲,陈宇明,等. 用受试者工作曲线评价抗环瓜氨酸肽抗体对诊断类风湿关节炎的价值[J]. 中华风湿病学杂志,2005,9(1):41-45.

[9] 王兰兰,吴健民. 临床免疫学与检验[M]. 4 版. 北京:人民卫生出版社,2007.

(收稿日期:2013-05-28)

16SrDNA 序列测定在采血耗材污染细菌鉴定中的应用*

肖 洁,宋 建,彭 涛[△]

(中国人民解放军成都军区总医院输血科,四川成都 610083)

摘 要:目的 探讨 16SrDNA 基因测序方法在鉴定采血耗材中未知细菌污染方面的应用价值。方法 对 15 例采血原辅耗材样本进行采样、分离、纯化培养。可疑阳性标本进一步采用 16SrDNA 基因测序检测,同时用表皮葡萄球菌标准菌株作为实验阳性对照。结果 15 例样本中有 3 例细菌培养可疑阳性,PCR 扩增其 16SrDNA 片段,测序结果与 GenBank 比对,分别与 *Macrococcus caseolyticus strain* (巨型球菌)、*Klebsiella pneumoniae* (肺炎克雷伯菌)与 *Bacillus thuringiensis* (苏云金芽孢杆菌)的同源性为 99%。表皮葡萄球菌标准菌株 16SrDNA 基因测序结果与来源一致。结论 16SrDNA 基因测序方法可用于血制品耗材中未知细菌的污染检测,在菌株鉴定方面有快速、特异的优势。

关键词:序列分析; 细菌鉴定; 采血耗材; 16SrDNA

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.21.044

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)21-2883-03

血液及血液制品的微生物污染是影响输血安全的重要因素之一。通过输血或注射血制品传播的病原微生物种类繁多,其中细菌污染已经越来越引起人们的重视。血液及血制品细菌污染按来源可分为内源性和外源性两种,外源性细菌污染包括采血耗材质量、献血员皮肤、采血者双手消毒不彻底、空气中细菌超标、血袋破损、血袋被污染等情况。如果采血耗材生产线被细菌污染,将直接给血液质量安全带来严重后果。传统的培养基检测方法由于培养周期长,敏感性不高,检出率较低等缺点,难于对生产线各监控点的微生物情况进行实时检测和控制。16SrDNA 为所有细菌共有,是细菌进化过程中最为保守的基因。基于 16SrDNA 基因分析的聚合酶链反应 (polymerase chain reaction, PCR) 技术,可为快速检测采血耗材中未知菌污染提供一种新颖、有效、可行的手段。本研究采用该方法

对某采血耗材生产厂家生产线上的可疑细菌污染样本进行检测,结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 主要仪器与试剂 主要仪器:生物安全柜 BBS-1500 II AZ-X (BioBase)、Life Express 基因扩增仪 (杭州博日科技有限公司)。主要试剂:革兰染液 (南京建成生物工程研究所)、细菌基因组 DNA 提取试剂盒 (宝生物工程有限公司)、PCR 扩增试剂 (宝生物工程有限公司)。

1.2 标准菌株与培养基 *Staphylococcus epidermidis* (表皮葡萄球菌标准菌株; ATCC35984) 来源于军事医学科学院输血研究所。TY 液体培养基按《分子克隆实验指南》(第 3 版)由本实验室自行配制。普通琼脂平板、血平板、血培养瓶 (厌氧) 购自郑州安图绿科生物工程有限公司。

* 基金项目:四川省科技厅 2008 年技术支撑项目 (2008SZ0108)。

[△] 通讯作者, E-mail: tao_1226@126.com。