

两种试剂检测抗心磷脂抗体的比较^{*}

朱益佳,徐龙珍,胡伟,陶月,张葵,王庆飞

(南京大学医学院附属鼓楼医院检验科,南京 210008)

摘要:目的 对两种商品化的抗心磷脂抗体(Anti-cardiolipin, ACA)试剂的检测结果进行比较。方法 采用欧蒙公司 ACA-IgA/G/M(总 ACA)检测试剂和亚辉龙公司 ACA-IgG, IgM 和抗 β 2 糖蛋白 I(β 2GPI)抗体 IgG(ACA 3 项)测定试剂盒,同时检测 66 例血清样本,比较两者结果的差异,并分析两者之间的关系。结果 欧蒙总 ACA 试剂的检出阳性率为 37.88%(25/66);亚辉龙 ACA 3 项试剂的检出阳性率为 31.82%(21/66, ACA-IgG, IgM 和抗 β 2GPI IgG 三者任一阳性),两种试剂检测结果不具有统计学差异;两者的检测符合率为 87.88%(58/66)。欧蒙试剂 ACA-IgA/G/M 的检测结果与亚辉龙试剂 ACA-IgG, IgM 和抗 β 2GPI IgG 3 个检测值的总和具有良好的相关性($r^2=0.892$, $P<0.01$)。结论 两种试剂检测结果符合性较高,具有良好的相关性,能满足临床应用的需要;两种试剂各具特色,可以根据需要选择合适的试剂单独或联合进行检测。

关键词:抗心磷脂抗体;抗 β 2 糖蛋白 I 抗体;相关性

中图分类号:R446 文献标志码:A 文章编号:1671-7414(2015)02-094-03

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2015.02.029

Comparison of Two Kits in Determining Anti-Cardiolipin

ZHU Yi-jia, XU Long-zhen, HU Wei, TAO Yue, ZHANG Kui, WANG Qing-fei

(Department of Clinical Laboratory, Nanjing Drum Tower Hospital,

School of Medicine, Nanjing University, Nanjing 210008, China)

Abstract: Objective To compare the results of anti-cardiolipin (ACA) measuring by two commercial available kits. **Methods** ACA in total of 66 serum samples were both determined by kits from Euroimmun and YHLO simultaneously, then the results were analyzed comparatively and correlatively. The Euroimmun kit was applied to determination the level of ACA-IgA/G/M, and the YHLO kit determined ACA-IgG/M and anti- β 2-glycoprotein I antibody (β 2GPI IgG). **Results** The positive rate by Euroimmun kit was 37.88% (25/66), while 31.82% (21/66) was positive (one positive among ACA-IgG, IgM and β 2GPI IgG) when determined by YHLO kit, and there was no significant difference between the two kits. The accordance rate of the two kits was 87.88% (58/66). The ACA-IgA/G/M value by Euroimmun kit and the summation of ACA-IgG, IgM and β 2GPI IgG by YHLO kit showed well linear correlation ($r^2=0.892$, $P<0.01$). **Conclusion** Results from the two kits were consistent and correlated well, and they are suitable for the clinical application; these two kits have their own characteristics, which could be used by individual or combination accordingly.

Keywords: anti-cardiolipin; anti- β 2-glycoprotein I antibody; association

抗心磷脂抗体(anti-cardiolipin, ACA)常见于抗磷脂综合征、系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎、硬皮病、舍格伦综合征等自身免疫性疾病。自发性流产、早产和死胎患者经常可检出 ACA,与是否存在自身免疫性疾病无关。检出高浓度 ACA 的患者发生静脉和动脉血栓的风险显著升高^[1,2]。ACA 是一组异质性抗体,存在 IgA, IgG 或 IgM 亚型,其中以 IgG 和 IgM 最常见。目前,临床多采用酶联免疫吸附试验(ELISA 法)测定 ACA,虽然此法简便易行,但是标准化程度低^[3],而且检测结果易受样本中抗 β 2 糖蛋白 I(β 2GPI)抗体 IgG 的影响。抗 β 2GPI 抗体对自身免疫性疾病的诊断具有

价值,在系统性红斑狼疮患者中抗 β 2GPI 抗体比 ACA 具有更高的阳性率^[4]。在此,我们采用目前应用比较广泛的两种 ACA 检测试剂,即欧蒙公司的 ACA-IgA/G/M(简称总 ACA)检测试剂和亚辉龙公司的 ACA-IgG, IgM 和抗 β 2GPI 抗体(简称 ACA 3 项)测定试剂,同时检测 66 例血清标本,比较两者结果的差异,并分析两者之间的关系,为更好的临床应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 研究对象 收集、选取 2014 年 10 月南京鼓楼医院风湿免疫科和生殖医学中心门诊和住院患者血清标本 66 例,患者均为女性,年龄 22~42 岁,

^{*} 基金项目:南京市医学科技发展专项资金(YKK13066)。

作者简介:朱益佳(1990-),女,学士,技师,主要从事临床免疫学检验工作。

通讯作者:王庆飞(1983-),男,博士, Tel:025-83106666-60645, E-mail:wangqingfei@gmail.com。

平均年龄(27.8±4.5)岁。

1.2 试剂与仪器 抗心磷脂抗体 IgA/G/M 检测试剂盒为德国欧蒙医学实验诊断公司产品,抗心磷脂抗体 IgG, IgM 和抗 β_2 GPI 抗体 IgG 测定试剂盒购自深圳市亚辉龙生物科技有限公司。标本稀释和加样采用 Hamilton 全自动酶免仪自动前处理系统,洗板机和酶标仪为 BIO-RAD 公司产品。UNION 全自动免疫分析仪购自亚辉龙公司。

1.3 方法 采集受检者外周静脉血 3~5 ml, 3 500 r/min 离心 3 min 分离血清后,置-20℃冰箱保存待检,避免反复冻融。按照欧蒙公司 ACA-IgA/G/M 检测试剂的说明,血清用样本缓冲液 1:201 稀释混匀后取 100 μ l 加样(标本稀释和加样采用 Hamilton 全自动酶免仪自动前处理系统完成),同时分别加 100 μ l 标准品 1,2,3(浓度分别为 120,12 和 2 RU/ml)以及阴阳性对照。室温孵育 30 min 后用洗板机清洗 3 次,每次用清洗缓冲液浸泡 1 min。随后,每孔加入按要求稀释后的酶结合物 100 μ l,室温孵育 30 min 后同先前步骤清洗。按操作说明加底物显色、终止后,用酶标仪在 450 nm 波长下比色,参考波长 620 nm。以上所有操作由专人完成。最后,根据各标准品的浓度及相应的吸光度绘制标准曲线(一次直线),酶标仪根据标准曲线自动算出患者血清中的 ACA 浓度。检测结果高于欧蒙实验室推荐的正常范围上限(cut-off)12 RU/ml 判断为阳性。同时,采用亚辉龙公司 ACA-IgG, IgM 和抗 β_2 GPI 抗体 IgG 测定试剂盒对上述 66 例标本进行检测,严格按照操作说明,由亚辉龙公司生产的 UNION 全自动免疫分析仪完成测定。ACA-IgG 和 IgM 检测结果>10 AU/ml 判断为阳性,抗 β_2 GPI 抗体 IgG 测定结果>7 AU/ml 判断为阳性;3 项检测结果中有 1 项阳性即判断为标本阳性。

1.4 统计学分析 两种试剂检出阳性率比较采用配对 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。用 Graphpad 5.0 软件进行相关性分析,计算相关系数和直线回归方程并作图。

2 结果

2.1 两种试剂检测结果比较 两种试剂检测结果汇总见表 1。在受检的 66 例血清样本中,欧蒙公司 ACA-IgA/G/M(总 ACA)试剂检出阳性标本 25 份,阳性率为 37.88%;亚辉龙公司试剂检出阳性标本(ACA-IgG, IgM, 抗 β_2 GPI 抗体三者任一阳性)21 份,阳性率为 31.82%;配对 χ^2 检验显示,两种试剂的检出率差异不具有统计学意义($\chi^2=1.12, P=0.29$)。若以欧蒙试剂的检测结果为标准,亚辉龙试剂的检测灵敏度为 76.0%,特异度为

94.1%,符合率为 87.88%(58/66)。

表 1 两种试剂同时检测结果汇总

欧蒙试剂 ACA-IgG/M	亚辉龙试剂 ACA-IgG/M+ β_2 GPI		合计
	阳性	阴性	
阳性	19	6	25
阴性	2	39	41
合计	21	45	66

2.2 总 ACA 与 ACA-IgG, IgM 和抗 β_2 GPI 抗体 IgG 三项检测结果 见表 2。可见,在欧蒙试剂总 ACA 阳性的 25 例血清样本中,亚辉龙试剂检测显示:其中分别有 7 例(28%)ACA-IgG 阳性,13 例(52%)ACA-IgM 阳性以及 9 例(36%)抗 β_2 GPI 抗体 IgG 阳性;另有 2 例(8%)ACA-IgG 和 ACA-IgM 双阳性,4 例(16%)ACA-IgG 和抗 β_2 GPI 抗体 IgG 双阳性,3 例(15%)ACA-IgM 和抗 β_2 GPI 抗体 IgG 双阳性,并有 1 例(4%)ACA-IgG, IgM 和抗 β_2 GPI 抗体 IgG 三项均阳性。在欧蒙试剂总 ACA 阴性的 41 例血清样本中,亚辉龙试剂的 ACA-IgM 均为阴性,有 2 例 ACA-IgG 单一阳性及 1 例抗 β_2 GPI 抗体 IgG 单一阳性。若以欧蒙试剂的检测结果为标准,亚辉龙试剂检测 ACA-IgG 的特异度为 95.1%,ACA-IgM 的特异度为 100%,抗 β_2 GPI 抗体 IgG 的特异度为 97.6%。

表 2 欧蒙试剂总 ACA 与亚辉龙试剂 3 项检测具体结果

欧蒙试剂	亚辉龙试剂					
	ACA-IgG		ACA-IgM		β_2 GPI	
	阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性
ACA-IgG/G/M 阳性	7	18	13	12	9	16
ACA-IgG/G/M 阴性	2	39	0	41	1	40

2.3 两种试剂检测结果的相关性分析 对 66 例用两种试剂同时检测的结果进行相关性分析发现,欧蒙试剂 ACA-IgA/G/M 的检测结果显示与亚辉龙试剂 ACA-IgG, IgM 和抗 β_2 GPI 抗体 IgG 3 项检测值的总和具有良好的相关性(线性回归方程 $Y=0.776X+1.564, r^2=0.892, P<0.01$),具体结果分布见图 1。

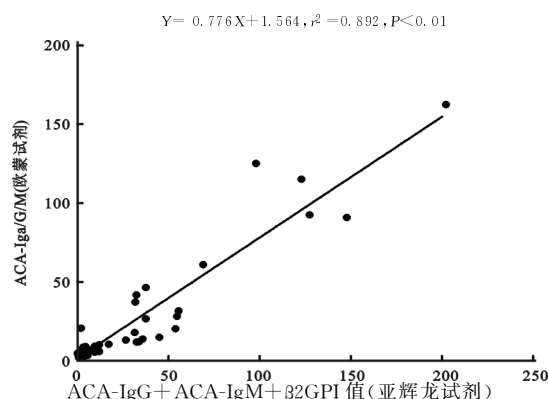


图 1 两种试剂检测结果的相关性分析

3 讨论 ACA 存在 IgA, IgG 或 IgM 3 种亚型。欧蒙总 ACA 检测试剂和亚辉龙 ACA 3 项检测试剂均采用酶联免疫吸附法, 具有简便、快速、可定量等优点。欧蒙总 ACA 检测试剂临床使用较广, 而亚辉龙试剂在国内使用时间较短。本研究采用两种 ACA 试剂同时检测 66 例临床标本, 进行结果比较、分析, 判断两种试剂的临床性能。从敏感度方面来看, 我们的结果显示两种试剂的检出率不具有统计学差异, 但欧蒙试剂的阳性率(37.88%, 25/66)略高于亚辉龙试剂的阳性率(31.82%, 21/66)。究其原因, 主要是因为前者可同时检测 IgA, IgM 和 IgG 三种类型的 ACA, 检测结果是三者之和, 一定程度上提高了检测敏感度; 而亚辉龙试剂不能检测 IgA 亚型, 并将 ACA-IgM, ACA-IgG 和抗 β 2GPI IgG 分开来检测, 没有叠加效应。若以欧蒙试剂的检测结果为标准, 亚辉龙试剂的检测特异度为 94.1%, 符合率为 87.88%, 能满足临床使用的要求。另一方面, 相关性分析发现, 欧蒙试剂总 ACA 的检测结果与亚辉龙试剂 ACA 三项检测值的总和具有良好的相关性, 说明亚辉龙试剂 ACA 三项检测值总和与欧蒙试剂总 ACA 具有良好的一致性。

本文的结果显示, 在欧蒙总 ACA 阳性的标本中, 以 IgM 亚类 ACA 最常见(阳性率为 52%), 其次为抗 β 2GPI IgG(阳性率为 36%), IgG-ACA 的阳性率为 28%, 与文献报道的阳性亚类有所差别^[5], 主要原因可能是由于本文选择的研究对象只来自生殖中心和风湿免疫科的患者。临床资料表明, 脑血栓患者以 IgG 型 ACA 阳性率最高, 且与临床密切相关; IgM 型 ACA 可以作为自然流产或死胎的前瞻性指标; 血小板减少症则以 IgG 型 ACA 多见, 且与血小板减少程度呈正相关。溶血性贫血、中性粒细胞减少则与 IgM 型有关^[6]。 β 2GPI 是一种血浆载脂蛋白, 具有磷脂结合位点。抗 β 2GPI 抗体 IgG 常见于抗磷脂抗体综合征和系统性红斑狼疮患者。临床上将 ACA 分为自身免疫型 ACA 和非自身免疫型 ACA, 前者与带负电荷的磷脂亲和力强, 且需依赖 β 2GPI 才能与心磷脂较好地结合; 非自身免疫性与自身免疫性疾病无关, 而与某些感染(如梅毒、肝炎、艾滋病、螺旋体病、结核等)有关, 该类抗体与带负电荷的磷脂亲和力弱^[7], 且不依赖 β 2GPI。另外, 大量的临床资料表明, 抗 β 2GPI 抗体 IgG 主要在自身免疫性疾病时升高, 对自身免疫性疾病的诊断有一定帮助^[8]; 联合测定抗 β 2GPI 抗体和 ACA 可显著提高抗磷脂综合征诊断率^[9,10]。亚辉龙试剂可半定量检测

IgM-ACA, IgG-ACA 和抗 β 2GPI IgG 水平, 可为临床疾病的诊断和风险预测提供进一步的依据。

总而言之, 欧蒙总 ACA 试剂和亚辉龙 ACA 三项检测试剂两者结果符合性较高, 具有良好的相关性, 能满足临床应用的需要; 两种试剂各具特色, 可以根据需要选择单独或联合进行检测。

参考文献:

- [1] Devreese KM. Antiphospholipid antibodies: evaluation of the thrombotic risk[J]. Thromb Res, 2012, 130 (Suppl 1): 37-40.
- [2] 刘 淳, 刘彦虹. 抗磷脂抗体促进血栓形成机制的研究[J]. 现代检验医学杂志, 2014, 29(1): 16-19.
Liu C, Liu YH. Research on antiphospholipid antibodies in the thrombosis and its pathogenesis[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2014, 29(1): 16-19.
- [3] 张蜀澜, 李永哲. 抗磷脂抗体检测的现状与展望[J]. 中华检验医学杂志, 2014, 37(8): 564-566.
Zhang SL, Li YZ. Current status and prospects of antiphospholipid antibodies test[J]. Chin J Lab Med, 2014, 37(8): 564-566.
- [4] Meroni PL, Chighizola CB, Rovelli F, et al. Antiphospholipid syndrome in 2014: more clinical manifestations, novel pathogenic players and emerging biomarkers[J]. Arthritis Res Ther, 2014, 16(2): 209.
- [5] Marai I, Gilbund B, Blank M, et al. Anti-cardiolipin and anti- β 2-glycoprotein I(β 2GPI) antibody assays as screening for anti-phospholipid syndrome[J]. Hum Antibodies, 2003, 12(3): 57-62.
- [6] Yehudai D, Toubi E, Shoenfeld Y, et al. Autoimmunity and novel therapies in immune-mediated thrombocytopenia[J]. Semin Hematol, 2013, 50 (Suppl 1): S100-S108.
- [7] Levy RA, de Meis E, Pierangeli S. An adapted ELISA method for differentiating pathogenic from nonpathogenic aPL by a beta 2 glycoprotein I dependency anti-cardiolipin assay[J]. Thromb Res, 2004, 114 (5/6): 573-577.
- [8] Willis R, Grossi C, Orietta Borghi M, et al. International standards for IgG and IgM anti- β 2glycoprotein antibody measurement [J]. Lupus, 2014, 23 (12): 1317-1319.
- [9] Loch H, Wiik A. IgG and IgM isotypes of anti-cardiolipin and anti-beta2-glycoprotein I antibodies reflect different forms of recent thrombo-embolic events[J]. Clin Rheumatol, 2006, 25(2): 246-250.
- [10] 张蜀澜, 吴子燕, 陈 思, 等. 不同亚型抗磷脂抗体在系统性红斑狼疮诊断中的价值[J]. 中华检验医学杂志, 2014, 37(8): 597-602.
Zhang SL, Wu ZY, Chen S, et al. Clinical significance of different antiphospholipid antibody isotypes in systemic lupus erythematosus[J]. Chin J Lab Med, 2014, 37(8): 597-602.

收稿日期: 2014-12-08

修回日期: 2015-02-06