

## 两种方法检测 RA 患者血清抗 CCP 抗体的结果比对分析\*

穆亚宏<sup>1</sup>, 刘小玲<sup>2</sup>, 白慧霞<sup>2</sup>, 王梦涛<sup>2</sup>, 刘宏毅<sup>2</sup>, 高敏<sup>2</sup>, 田丽娜<sup>2</sup>, 周剑峰<sup>2</sup>, 姚志娟<sup>2</sup>

(1. 西北工业大学医院, 西安 710072; 2. 西安市风湿病研究所检验科, 西安 710082)

**摘要:**目的 比较酶联免疫吸附试验(ELISA)法和胶乳免疫比浊法检测血清抗环瓜氨酸肽(抗-CCP)抗体对 RA 患者的诊断价值和临床适用性。方法 收集西安市风湿病研究所 2014 年 12 月~2015 年 2 月期间住院患者的新鲜血清 267 份, 另选陕西省血液中心健康献血员新鲜血清 50 例, 分别用酶联免疫吸附试验(ELISA)法和胶乳免疫比浊法检测抗 CCP 抗体, 评价两种方法结果的相关性及其对 RA 诊断的临床适用性。结果 ELISA 和胶乳免疫比浊法的敏感度、特异度和诊断一致性分别为 77.3%, 86.8%, 94.3% 和 76.2%, 80.2%, 77.9%; 两种方法比较 Kappa 值为 0.756, 二者具有一致性; 对两组数据进行  $\chi^2$  检验,  $\chi^2=1.85$ ,  $P>0.05$ , 方法间比较差异无统计学显著性意义; ELISA 和胶乳免疫比浊法 ROC 曲线下面积分别是 0.876 和 0.832。结论 血清抗 CCP 抗体检测对 RA 患者具有一定的诊断价值, ELISA 法和胶乳免疫比浊法检测抗 CCP 抗体具有一致性。两种方法学之间无统计学差异, 胶乳免疫比浊法更适合于基层医疗机构的应用。

**关键词:** 抗环瓜氨酸肽抗体; 酶联免疫吸附试验法; 胶乳免疫比浊法

中图分类号: R593.22; R392.11 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2015)03-111-03

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2015.03.032

### Comparison Analysis of the Results of Serum Anti CCP Antibody in Patients with RA by Two Methods

MU Ya-hong<sup>1</sup>, LIU Xiao-ling<sup>2</sup>, BAI Hui-xia<sup>2</sup>, WANG Meng-tao<sup>2</sup>,

LIU Hong-yi<sup>2</sup>, GAO Min<sup>2</sup>, TIAN Li-na<sup>2</sup>, ZHOU Jian-feng<sup>2</sup>, YAO Zhi-juan<sup>2</sup>

(1. The Hospital of Northwestern Polytechnical University, Xi'an 710072, China;

2. Department of Clinical Laboratory, Xi'an Institute of Rheumatism, Xi'an 710082, China)

**Abstract:** **Objective** To compare diagnosis value and the clinical application of enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) method and the immune turbidimetric method detecting serum anti cyclic citrullinated peptide (CCP) antibody in patients with RA. **Methods** Collected fresh serum specimen of 267 inpatients with RA in Rheumatism Department of Xi'an Institute of Rheumatism from December 2014 to February 2015, and fresh serum specimen of 50 healthy blood donors from the Blood Center of Shaanxi Province respectively. Anti CCP antibody was detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method and the latex immunoturbidimetry assay. Evaluated the correlation of the results and clinical application to RA diagnosis. **Results** Sensitivity, specificity and diagnostic consistency of ELISA and latex immunoturbidimetry assay were 77.3%, 86.8%, 94.3% and 76.2%, 80.2%, 77.9% respectively. Compared two kinds of methods, the value of Kappa was 0.756, for having consistency. Through  $\chi^2$  test ( $\chi^2=1.85$ ,  $P>0.05$ ), there was no significant difference between two methods. Area of ELISA and latex immunoturbidimetry under the ROC curve were 0.876 and 0.832 respectively. **Conclusion** Detection of serum anti CCP antibody has diagnostic value in RA patients. The ELISA method and the latex immunoturbidimetry assay for detection of anti CCP antibodies had consistency. Two methods had no statistical difference, and the latex turbidimetric method is suitable for grassroots medical institutions.

**Keywords:** anti CCP antibody; ELISA; latex turbidimetric method

类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)的病因至今并不十分明确,目前大多认为是一种常见的系统性自身免疫疾病<sup>[1]</sup>。是一种以关节滑膜慢性炎症为主要表现,慢性致残性疾病,若不能早期诊断、早期规范治疗,关节就会发生不可逆的破坏或畸形,因此早期诊断对改变预后特别重要。目前对于 RA 的诊断采用 2009 年美国风湿病学会(ACR/ARPH)公布的最新的 RA 诊断标准,将抗环瓜氨酸肽(anti-cyclic peptide antibody, CCP)抗体及类风湿因子(RF)纳入其中,由于类风湿因子

(RF)可出现于许多慢性传染病、健康老年人及其它自身免疫性疾病中,在 RA 中特异性差;故抗-CCP 抗体被广泛应用于 RA 的早期诊断,对早期 RA 诊断具有较高的特异度和敏感度。一项前瞻性研究显示:在没有出现明显的 RA 临床症状的抗 CCP 抗体阳性的病人中,约有 93% 的病人会发展成 RA,表明该抗体有非常好的阳性预期值<sup>[2]</sup>。目前临床检测抗 CCP 抗体的方法有多种,但是不同厂家的试剂性能良莠不齐。不同方法结果差异较大,即使同一种方法不同生产厂家的试剂质量差异

\* 作者简介:穆亚宏(1962—),男,本科,医学学士,副主任医师,主要从事皮肤病免疫学研究, E-mail: lxl0504@126.com。

也较大,下面是我们用经典 ELISA 法和胶乳免疫比浊法对抗-CCP 抗体检测结果的比对分析,供同行参考。

## 1 研究对象和方法

1.1 研究对象 收集西安市风湿病研究所风湿科 2014 年 12 月~2015 年 2 月期间住院患者的新鲜血清 267 份,RA 诊断采用 2009 年美国风湿病学会(ACR/ARPH)公布的最新的 RA 诊断标准<sup>[3]</sup>。RA 患者 181 例,强直性脊柱炎 19 例,痛风 7 例,骨关节炎 26 例,其他 34 例;另选陕西省血液中心健康献血员新鲜血清 50 例,其中男性 32 例,女性 18 例。年龄 20~52 岁,平均年龄 45 岁。

1.2 方法 疾病组所有研究对象均采取空腹静脉血 3 ml 于一次性干燥试管,尽快分离血清,2℃~8℃保存,当日测定。分别用酶联免疫吸附试验(ELISA)法和胶乳免疫比浊法检测抗 CCP 抗体。ELISA 法设备:酶标仪使用深圳雷度 Rayto RT-6100,试剂由欧洲诊断试剂公司提供(瑞典 Euro-Diagnostica AB),浓度 $\geq 25$  U/ml 为阳性, $< 25$  U/ml 为阴性;胶乳免疫比浊法使用日本贝克曼 OLYMPUS AU2700 全自动生化分析仪,试剂由杭州中翰盛泰医疗器械有限公司提供抗-CCP 测定试剂盒,检测结果 $\geq 55$  U/ml 为阳性,所有操作严格按照说明书操作。

1.3 统计学分析 采用 spss19.0 统计软件。方法一致性分析采用 Kappa 检验,Kappa $> 0.75$  表示一致性好, $< 0.4$  表示一致性差。方法间相关性分析采用 $\chi^2$ 检验, $P < 0.05$  为差异有统计学意义;同时绘制 ROC 曲线图,计算曲线下面积(AUC-ROC)。

## 2 结果

2.1 样本检测结果 317 例样本抗 CCP 抗体检测阴阳性分布见表 1。

表 1 两种方法检测抗 CCP 抗体的结果分布情况( $n=317$ )

病例 诊断	n	ELISA		胶乳免疫比浊法	
		+	-	+	-
RA	181	140	41	138	43
强直性脊柱炎	19	4	15	3	16
痛风	7	0	7	0	7
骨关节炎	26	3	23	8	18
其他	34	9	25	13	21
健康对照	50	2	48	3	47

表 1 结果显示,在对 RA 诊断中 ELISA 法敏感度为 77.3%,特异度达 86.8%,阴、阳性预测值分别为 74.2%和 88.6%,诊断一致率为 94.3%。胶乳免疫比浊法敏感度为 76.2%,特异度达 80.2%,阴、阳性预测值分别为 71.7%和 83.6%,

诊断一致率为 77.9%,两种方法阳性符合率为 92.4%,阴性符合率为 80.4%。两种方法比较 Kappa 值为 0.756,二者具有一致性,对两组数据进行 $\chi^2$ 检验,方法间差异无统计学意义( $\chi^2 = 1.85, P > 0.05$ ),但胶乳免疫比浊法特异度、诊断一致率要低于 ELISA 法。

2.2 根据两种方法检测结果绘制 ROC 曲线图见图 1。

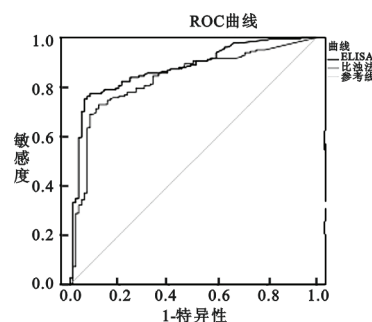


图 1 ROC 曲线图

图 1 显示,曲线下面积分别为 0.876 和 0.832,均 $> 0.8$ ,说明两种方法检测抗 CCP 抗体对 RA 均具有一定的诊断价值。

3 讨论 由于类风湿关节炎(RA)的病因不明,目前 RA 诊断主要依靠临床症状、影像学检查和血清学指标,美国风湿病学会(ACR)1987RA 诊断标准血清学指标 RF 缺乏特异度,不利于早期诊断;2009 ACR/EULAR 的诊断标准血清学指标补充了抗 CCP 抗体,敏感而且特异,弥补了 RF 的不足,在疾病早期即可出现阳性,并且具有很高的阳性预期值,目前,抗 CCP 抗体检测方法较多,试剂厂家质量良莠不齐,最经典方法是 ELISA(主要检查血清中抗 CCP 的 IgG 抗体),其优点:灵敏度高、成本低,适合批量检测;缺点:操作过程复杂,检测时间长,主观影响因素多,半定量,不适合连续检测单个标本;化学发光方法或电化学发光(ECLIA)法:自动化程度高,检测速度快,灵敏度高,可定量,适合连续检测单个样本,但是耗材成本高,且需要昂贵特殊设备;胶体金法,操作简单、快速,成本也低,但是灵敏度低,最大的局限性是只能定性不能定量;时间分辨荧光免疫分析法(TRFIA)检测抗 CCP 抗体研究应用较广,灵敏度高、重复性好、线性范围宽、标记物存放时间长、无放射性污染等优点。但检测需使用特殊的 TRFIA 分析仪,且本底荧光及荧光强度会对检测结果产生影响。而乳胶免疫比浊法是刚刚面市的适用于全自动生化分析仪的一种全新的方法,自动化程度高,检测速度快,灵敏度高,可定量,适合大批量及连续单个样本检测,同时又回避了化学发光法成本高的弊端,适合当前各大医院人满为患的现状。(下转 114 页)

(上接 112 页)本研究对经典的 ELISA 法和全新的胶乳免疫比浊法检测抗 CCP 抗体进行比较,Kappa 值为 0.756(大于 0.75),表明两种方法具有一致性。但胶乳免疫比浊法的特异度、诊断一致率均低于 ELISA 法,两方法之间的差异,可能是由于两种方法的校准品及 Cutoff 选择不同,也可能是因为 ELISA 法检测的是抗 CCPIgG 抗体,而胶乳免疫比浊法检测的是 IgG 或 IgM 抗体。目前,抗 CCP 抗体检测方法由于缺乏国际参考物质<sup>[4]</sup>,各厂家采用自己的校准品进行校准,因此标准化是解决方法间差别的主要问题。

综上所述,在抗 CCP 抗体检测未实现标准化之前方法间存在差异是不可避免的,这种现状会给临床带来一定的困惑,同时可能会导致医患之间的纠纷增多,因此实验室在选择方法时一定要做好性能验证,选择性能指标较好的产品,并且一定要建立自己实验室的参考区间。选择一个合适的检测方法更有助于 RA 患者的早期诊断及治疗,又利于提高工作效率。

## 参考文献:

- [1] Scott DL, Wolfe F, Huizinga TW. Rheumatoid arthritis [J]. Lancet, 2010, 376(9746): 1094-1108.
- [2] Van Boekel MA, Vossenaar ER, Van den Hoogen F-H, et al. Autoantibody systems in rheumatoid arthritis: specificity sensitivity and diagnostic value [J]. Arthritis Res, 2002, 4(2): 87-93.
- [3] Van der Linden MP, Knevel R, Huizinga TW, et al. Classification of rheumatoid arthritis: comparison of the 1987 American College of Rheumatology criteria and the 2010 American College of Rheumatology / European League Against Rheumatism criteria [J]. Arthritis Rheum, 2011, 63(1): 37-42.
- [4] Rottmann M. Anti-CCP: challenges in quantifying autoantibodies and creating international reference materials [J]. Scand J Clin Lab Invest Suppl, 2010(242): 44-45.
- [5] 刘国瑞, 常林, 郑田, 等. 两种方法检测血清抗 CCP 抗体在 RA 诊断中的比较 [J]. 现代检验医学杂志, 2014, 29(1): 83-84.  
Liu GR, Chang L, Zheng T, et al. Comparison of two methods for the detection of serum anti CCP antibody in the diagnosis of RA [J]. J Mod Lab Med, 2014, 29(1): 83-84.

收稿日期: 2014-04-05

修回日期: 2014-04-23