

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.21.016

不同品牌试剂盒及方法学间抗核抗体检测结果分析

赵迪, 陈燧琼, 邓晓刚, 杨文杰, 徐雨杰, 李智[△]

(上海杨浦区中心医院检验科 200090)

摘要:目的 比较分析不同品牌试剂盒及方法学间抗核抗体检测结果。方法 选取该院 2012 年 4~12 月进行自身抗体检测血清者 180 例,其中自身免疫性疾病患者 145 例,健康对照 35 例;同时进行亚辉龙 ANA-17S、欧蒙 ANA 谱 3 以及欧蒙 IIFA 的平行比对试验。分别计算灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值及两种试剂盒间的符合率。结果 亚辉龙 ANA-17S、欧蒙 ANA 谱 3、欧蒙 IIFA 的灵敏度依次为 94.8%、90.4%、95.6%;特异度依次为 88.9%、91.1%、93.3%;阳性预测值依次为 96.2%、96.8%、97.7%;阴性预测值为 85.1%、75.9%、87.5%;亚辉龙 ANA-17S 与欧蒙 IIFA 的符合率为 84.0% ($P>0.05$);欧蒙 ANA 谱 3 与欧蒙 IIFA 符合率为 80.0% ($P>0.05$);亚辉龙 ANA-17S 与欧蒙 ANA 谱 3 符合率为 93.0% ($P>0.05$)。结论 3 种试剂盒对自身抗体检测都有较好的灵敏度和特异度,可用于自身免疫性疾病的抗体指标检测。实验室检测应该多元化,抗体指标检测应结合临床诊断标准对患者作出疾病诊断。

关键词:免疫印迹法;抗核抗体谱;间接免疫荧光法

中图分类号:R318

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2014)21-2734-02

The test results analysis of antinuclear antibodies using different brands kit and methodology

Zhao Di, Chen Yanqiong, Deng Xiaogang, Yang Wenjie, Xu Yujie, Li Zhi[△]

(Department of Clinical Laboratory, Yangpu District Central Hospital, Shanghai 200090, China)

Abstract: Objective To compare test results of antinuclear antibodies (ANA) using different brands kit and methodology. **Methods** 180 cases who accepted serum ANA detection in hospital from April to December 2012 were choosen, in which 145 cases of positive serum and 35 cases of healthy control. The 180 cases were tested for ANAs by YHLO ANA-17S, EUROIMMUN ANA profile 3 and ANA IIFA kits at the same time, and all parameters about ANA decetion were compared such as sensitivity, specificity, positive predictive value, negative predictive value and the coincidence rate between the two kinds of kits. **Results** The sensitivity of YHLO ANA-17S, EUROIMMUN ANA profile 3 and EUROIMMUN ANA IIFA was 94.8%, 90.4%, 95.6%; specificity was 88.9%, 91.1%, 93.3%; positive predictive value was 96.2%, 96.8%, 97.7%; negative predictive value was 85.1%, 75.9%, 87.5%; the coincidence rate between the EUROIMMUN ANA profile 3 and EUROIMMUN ANA IIFA was 84.0% ($P>0.05$), between the YHLO ANA-17S and EUROIMMUN ANA IIFA was 80.0% ($P>0.05$), between the YHLO ANA-17S and EUROIMMUN ANA profile 3 was 93.0% ($P>0.05$). **Conclusion** Three kits for detecting ANAs have good sensitivity and specificity, which can be used for autoimmune disease detection. Laboratory tests result should be combined with clinical symptoms according to the diagnostic criteria to make the final diagnosis.

Key words: immunoblotting; antinuclear antibodies; indirect immunofluorescence assay

自身免疫性疾病(AID)是指机体对自身抗原发生免疫反应导致自身组织损害所引起的疾病。抗核抗体谱(ANAs)是一组将自身真核细胞的各种成分脱氧核糖核蛋白(DNP)、DNA、可提取的核抗原(ENA)和 RNA 等作为靶抗原的自身抗体的总称。AID 患者常累及多器官、体内存在多种自身抗体。ANAs 检测可同时对多种 AID 进行筛查。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2012 年 4~12 月来本院进行自身抗体检测血清者 180 例,其中 AID 患者 145 例,健康对照 35 例。145 例 AID 患者男 48 例,女 97 例,年龄 15~70 岁,平均 57 岁;包括系统性红斑狼疮(SLE)52 例,多发性肌炎/皮肌炎(PM/DM)13 例,干燥综合征(SS)38 例,类风湿关节炎(RA)10 例,自身免疫性肝病(ALD)12 例,其他 AID 20 例。所有 AID 患者的诊断均符合国际相关学会的诊断标准。35 例健康对照男 24 例,女 11 例,年龄 32~64 岁,平均 46.1 岁。

1.2 仪器与试剂 ANA 间接免疫荧光分析检测试剂盒来自于德国欧蒙(杭州)医学诊断试验有限公司提供的 ANA-IIFA (以下简称欧蒙 IIFA)。每个反应区同时有灵长类肝组织片和 HEP-2 细胞。荧光显微镜型号为 Leica DM1000。

ANA 线性免疫分析(以下简称 LIA-ANA)检测:两种品牌试剂盒一种为深圳市亚辉龙生物科技有限公司提供的 ANAs 检测试剂盒(规格:17S-24T,以下简称亚辉龙 ANA-17S),包被抗原为 Nucleosome、dsDNA、Histone、SmD1、PCNA、P0、SSA/Ro60kD、SSA/Ro52kD、SSB/La、Cenp-B、Scl-70、U1-snRNP、AMA-M2、Jo-1、PM-Scl、Mi-2 和 Ku,配套仪器为该公司 Ten-fly Blot-B 全自动蛋白印迹仪;另一种为德国欧蒙(杭州)医学诊断试验有限公司提供的 ANAs(IgG)检测试剂盒(规格 ANA 谱 3,以下简称欧蒙 ANA 谱 3),包被抗原为 nRNP/Sm、Sm、SSA、Ro52KD、SSB、Scl-70、PM-Scl、Jo-1、Cenp-B、Nucleosome、PCNA、dsDNA、Histone、Rib-P、AMA-M2。

1.3 方法 同时采用欧蒙 IIFA、亚辉龙 ANA-17S、欧蒙 ANA 谱 3 检测试剂盒对 180 份标本进行平行比对试验,严格按照各自的产品说明书进行操作。

1.4 统计学处理 采用 SPSS18.0 软件进行统计分析。3 种试剂盒的灵敏度、特异度、阳性预测值,阴性预测值,两个试剂盒间的符合率均采用四格表计算;两种试剂盒间各指标采用 χ^2 检验进行比较;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3 种试剂盒检测阳性检出率的比较 亚辉龙 ANA-17S、欧蒙 ANA 谱 3、欧蒙 IIFA 检测的阳性检出率分别为 94.8%、90.3%、78.5%。见表 1。

表 1 两种品牌试剂盒及两种方法学间 ANA 检测结果比较(n)

组别	n	亚辉龙 ANA-17S		欧蒙 ANA 谱 3		欧蒙 IIFA	
		阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性
AID 组	135	128	7	122	13	129	6
对照组	45	5	40	4	41	3	42

2.2 3 种试剂盒检测效能比较 亚辉龙 ANA-17S、欧蒙 ANA 谱 3、欧蒙 IIFA 检测的灵敏度依次为 94.8%、90.4%、95.6%;特异度依次为 88.9%、91.1%、93.3%;阳性预测值依次为 96.2%、96.8%、97.7%;阴性预测值依次为 85.1%、75.9%、87.5%。见表 2。

表 2 3 种试剂盒检测效能的比较(%)

试剂盒	灵敏度	特异度	阳性预测值	阴性预测值
亚辉龙 ANA-17S	94.8	88.9	96.2	85.1
欧蒙 ANA 谱 3	90.4	91.1	96.8	75.9
欧蒙 IIFA	95.6	93.3	97.7	87.5

2.3 3 种试剂盒两两间的检测符合率及相关性比较 欧蒙 ANA 谱 3 与欧蒙 IIFA 的符合率为 80.0%,两种方法差异无统计学意义($P > 0.05$);亚辉龙 ANA-17S 与欧蒙 IIFA 的符合率为 84.0%,两种方法差异无统计学意义($P > 0.05$);亚辉龙 ANA-17S 与欧蒙 ANA 谱 3 的符合率为 93.0%,两种试剂盒间差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 3~5。

表 3 欧蒙 ANA 谱 3 与欧蒙 IIFA 结果比较(n)

欧蒙 ANA 谱 3	欧蒙 IIFA		合计
	阳性	阴性	
阳性	111	15	126
阴性	21	33	54
合计	132	48	180

表 4 亚辉龙 ANA-17S 与欧蒙 IIFA 结果比较(n)

亚辉龙 ANA-17S	欧蒙 IIFA		合计
	阳性	阴性	
阳性	118	15	133
阴性	14	33	47
合计	132	48	180

表 5 亚辉龙 ANA-17S 与欧蒙 ANA 谱 3 结果比较(n)

亚辉龙 ANA-17S	欧蒙 ANA 谱 3		合计
	阳性	阴性	
阳性	123	10	133
阴性	3	44	47
合计	126	54	180

3 讨论

自身抗体检测是诊断 AID 实验室检测的重要手段^[1]。随着商品化自身抗体检测试剂盒以及检测方法多元化、自动化的出现,大量新的、特异性的抗体被发现,对自身抗体检测在临床的推广普及起到了重要作用^[2-3]。通过本实验发现:(1)3 种商品化的试剂盒对自身抗体检测有一定检出率,可用于 AID 的检测,见表 1。(2)3 种商品化试剂盒对自身抗体检测有较好的灵敏度和特异度,但也存在一定差异,亚辉龙 ANA-17S、欧蒙 ANA 谱 3、欧蒙 IIFA 检测的灵敏度依次为 94.8%、90.4%、95.6%;特异度分别为 88.9%、91.1%、93.3%。(3)欧蒙 ANA 谱 3 与欧蒙 IIFA 结果比较符合率为 80.0% ($P > 0.05$);同样亚辉龙 ANA-17S 与欧蒙 IIFA 结果比较,符合率为 84.0% ($P > 0.05$),见表 3、4。分析结果显示,间接免疫荧光法阳性而 ANAs 阴性,其原因在于 ANA 现有 100 多种自身抗体,而 ANAs 仅对十几种自身抗体进行检测,所以会有部分未知抗体仅依靠免疫荧光法检出;ANA 阴性而 ANAs 阳性。其原因可能在于间接免疫荧光法对于部分低含量的抗原成分不能检测到,如 5 号标本 SSA 抗体,用 HEp-2 细胞检测不到,而用重组或纯化的 SSA 靶抗原即可检测到。所以间接免疫荧光法也存在一定的筛选盲点^[4-6]。(4)亚辉龙 ANA-17S 与欧蒙 ANA 谱 3 结果比较,符合率为 93.0% ($P > 0.05$),不同品牌试剂盒间即使方法学一致检测相同标本结果不一定完全一致^[7-9]。其主要原因在于不同厂家抗原的来源及纯化方式不同,如实验差异大的 U1-snRNP,欧蒙公司选择天然纯化的抗原,并同时混合 Sm 抗原,而亚辉龙公司选择重组的 A、C 和 68KD 蛋白作为检测抗原,而目前自身抗体检测尚无公认金标准,所以建议参照其他检测指标以及临床表现来综合考虑^[10-11]。(5)在结果中看到出现亚辉龙 ANA-17S 检测 Ku、Mi-2 阳性标本,对应有荧光模型而欧蒙 ANA 谱 3 显示阴性,表明新的特异度指标的出现能完善 ANAs 检测体系,避免漏检^[12]。(6)实验室检测的指标结果只能对 AID 患者的诊断起到提示作用,建议结合临床指标来综合评价,加强检验与临床的沟通^[13]。(7)使用自动化仪器进行实验操作并使用软件进行结果的自动判读,不仅可大大减少实验室工作量,提高工作效率,而且可以减少人为主观差异,有利于结果获取和输出的标准化。当然,首先要做好自动化仪器的标准化^[14]。

总之,自身抗体对 AID 诊断和鉴别诊断、病情评估与治疗监测、病程转归与预后判断等方面具有重要临床应用价值。实验室进行检测方法的多元化、自动化、量化、标准化成为必然趋势。由定性筛查实验到靶抗原定量确认实验最后结合临床指标综合诊断的检测流程是对自身抗体实验室检测程序的正确解读^[15-17]。

- fects against ethanol-induced oxidative stress and mitochondrial permeability transition in the liver[J]. *Cell Mol Immunol*, 2004, 1(3): 205-211.
- [3] Roede JR, Orliry DJ, Fisher AB, et al. Over-expression of peroxiredoxin 6 does not prevent ethanol-mediated oxidative stress and may play a role in hepatic lipid accumulation[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2009, 330(1): 79-88.
- [4] Reuben A. Alcohol and the liver[J]. *Curr Opin Gastroenterol*, 2008, 24(4): 328-338.
- [5] 丁晓东. 酒精性肝病肝损伤的信号通路[J]. *肝脏*, 2012, 17(4): 269-271.
- [6] Mulvihill EE, Huff MW. Antiatherogenic propertise of flavonoids; implications for cardiovascular health[J]. *Can J Cardiol*, 2010, 26(Suppl A): 17A-21A.
- [7] 孙海岚, 杨剑. 茶多酚的抗炎研究进展[J]. *重庆医学*, 2012, 41(35): 3766-3768.
- [8] 李萍, 杨志刚, 文国容, 等. 茶多酚对 ACC-M 细胞株 Fas、FasL 表达的影响[J]. *重庆医学*, 2010, 39(3): 268-272.
- [9] Chen D, Milacic V, Chen MS, et al. Tea polyphenols, their biological effects and potential molecular targets[J]. *Histol Histopathol*, 2008, 23(4): 487-496.
- [10] 唐元瑜, 水楠楠. 油红 O 染色原代未活化胰腺星状细胞脂肪滴的实验观察[J]. *中国组织化学与细胞化学杂志*, 2013, 22(3): 266-268.
- [11] 丁伟, 陈晓超, 刘树滔, 等. 酒精对肝细胞损伤的自由基理研究[J]. *福州大学学报: 自然科学版*, 2009, 37(6): 924-928.
- [12] Xiu FW, Min Y. Relationship between alcohol consumption and clinical manifestation of patients with fatty liver: a single-center study[J]. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, 2011, 10(3): 276-279.
- [13] 林春兰, 蒋建伟, 严玉霞, 等. 茶多酚对酒精诱导的小鼠肝脂质过氧化和血清 ALT 活性变化的影响[J]. *中国病理生理杂志*, 2003, 19(1): 110-112.
- [14] Zakhari S. Overview: how is alcohol metabolized by the body[J]. *Alcohol Res Health*, 2006, 29(3): 245-254.
- [15] Yu HS, Oyama T, Isse T, et al. Formation of acetaldehyde-derived DNA adducts due to alcohol exposure[J]. *Chem Biol Interact*, 2010, 188(4): 367-375.
- [16] 李芬, 管小琴, 刘利. 茶多酚对酒精性肝病大鼠 TNF- α 及肝细胞的影响[J]. *世界华人消化杂志*, 2008, 16(4): 356-360.
- [17] Nassir F, Ibdah JA. Role of mitochondria in alcoholic liver disease[J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(9): 2136-2142.
- [18] Lau AT, Wang Y, Chiu JF, et al. Reactive oxygen species: current knowledge and applications in cancer research and therapeutic[J]. *J Cell Biochem*, 2008, 104(10): 657-667.

(收稿日期: 2014-02-13 修回日期: 2014-03-09)

(上接第 2735 页)

参考文献:

- [1] 蒋明, David YU, 林孝义, 等. 中华风湿病学[M]. 北京: 华夏出版社, 2004: 866-881.
- [2] 唐福林. 自身抗体检测的质控势在必行[J]. *中华风湿病学杂志*, 2004(8): 385-386.
- [3] 汪付兵, 涂建成. 自身免疫性疾病抗体谱及其实验室检测进展[J]. *国际检验医学杂志*, 2013, 34(7): 776-777.
- [4] Ilse E, A Hoffman. Detection of specific antinuclear reactivities in patients with negative anti-nuclear antibody immunofluorescence screening tests[J]. *Clin Chem*, 2002, 48: 2171-2176.
- [5] Sack U, Conrad K, Csernok E. Autoantibody detection using indirect immunofluorescence on Hep-2 cells[J]. *Ann NY Acad Sci*, 2009(9): 166-173.
- [6] Maguire GA, Ginawi A, Lee J, et al. Clinical utility of ANA measured by ELISA compared with ANA measured by immunofluorescence[J]. *Rheumatol*, 2009, 48(10): 1013-1014.
- [7] 穆春晓. ANA 及抗 ENA 抗体联合检测对自身免疫病诊断价值分析[J]. *中国药业*, 2012(8): 171-172.
- [8] 吴庆. 抗可提取性核抗原抗体与抗核抗体的对照分析[J]. *国际检验医学杂志*, 2006, 27(8): 679-680.
- [9] 田巧. 间接免疫荧光法检测抗核抗体与免疫印迹法检测抗核抗体谱结果分析[J]. *中国社区医学*, 2013, 15(2): 217.
- [10] 王奔放, 郁建江, 周剑波, 等. 抗 SmD1 抗体在系统性红斑狼疮中的临床应用价值[J]. *临床和实验医学杂志*, 2012(3): 168-169.
- [11] 陈虹, 郑捷. RNP 抗原及其抗体[J]. *临床皮肤科杂志*, 2002, 31(6): 397-399.
- [12] Hengstman GJ, VreeEgberts WT, Seelig HP, et al. Clinical characteristics of patients with myositis and autoantibodies to different fragments of the Mi-2 beta antigen. [J] *Ann Rheum Dis*, 2006, 65(2): 242-245.
- [13] 李晓军. 抗核抗体检测的质量要求及结果的合理判读[J]. *临床检验杂志*, 2007, 25(2): 84-85.
- [14] 徐幼筠, 吴东海. 第二次全国自身抗体检测的质控总结[J]. *中华风湿病学杂志*. 2005, 9: 211-214.
- [15] 李永哲. 自身抗体检测技术临床推广应用和质量保证工作中应重视的问题[J]. *中华检验医学杂志*, 2006, 29(9): 769-773.
- [16] 王兰兰. 自身抗体检测的应用与质量保障原则[J]. *中华检验医学杂志*, 2005, 28(10): 17-20.
- [17] 万本愿, 李胜远, 姜青龙. 自身抗体检测的临床应用与质量控制[J]. *实验与检验医学*, 2013, 31(1): 52-54.

(收稿日期: 2014-02-02 修回日期: 2014-04-01)