

实验室评价抗 dsDNA 抗体检测试剂盒优劣的方法

曹珂, 刘会彩(河南省郑州市中医院检验科 450007)

【摘要】 目的 评价四川省新成生物科技有限责任公司(A 厂家)研制的赛盟自免抗 dsDNA 抗体检测试剂盒(线性免疫分析法)与已上市销售的同类产品的优劣,探讨实验室评价抗 dsDNA 抗体检测试剂盒优劣的方法。**方法** 收集 2013 年 6~8 月临床确认为系统性红斑狼疮的患者血清 50 例设为实验组,收集同期健康体检者血清 50 例设为对照组,分别采用 A 厂家和德国某知名厂家(B 厂家)生产的抗 dsDNA 抗体检测试剂盒进行检测,对检测结果进行统计分析。**结果** 实验组 A 厂家阳性符合率(88.0%)大于 B 厂家阳性符合率(82.0%);对照组 2 个厂家阴性符合率相近。检测结果一致性分析,A 厂家 Kappa 值为 0.84,B 厂家 Kappa 值为 0.78。**结论** 新成生物研制的赛盟自免抗 dsDNA 抗体检测试剂盒(线性免疫分析法)和已上市销售的同类产品具有等效性,在临床结果符合率方面优于 B 厂家生产的同类产品。

【关键词】 抗 dsDNA 抗体; 系统性红斑狼疮; 线性免疫分析法

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2014.13.016 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2014)13-1781-02

Evaluation of different kits for the detection of anti-dsDNA antibody CAO Ke, LIU Hui-cai (Clinical Laboratory, Zhengzhou Traditional Chinese Hospital, Zhengzhou, Henan 450007, China)

【Abstract】 Objective To evaluate the performance of two different kit for the detection of anti-dsDNA antibody. **Methods** A total of 50 patients with definite diagnosis of systemic lupus erythematosus (SLE) was enrolled as experiment group from Jun. 2013 to Oct. 2013, and 50 cases of healthy subjects were enrolled as control group. Serum samples were collected, and detected for anti-dsDNA antibody by kits of Sichuan Xincheng Biotechnology Ltd. Company (kits A) and kits of another manufacture (kits B), and the results were statistically analyzed. **Results** The positive coincidence rate of kits A for the detection of samples of experiment group was 88.0%, higher than the 82.0% of kits B. The negative coincidence rates of the two kits for the detection of samples of control group were at the same level. Concordance analysis indicated that the Kappa values of kits A and kits B were 0.84 and 0.78 respectively. **Conclusion** There could be equivalence of the kits A and kits B for the detection of anti-dsDNA antibody, and the former might be with higher clinical coincidence rate.

【Key words】 anti-dsDNA antibody; systemic lupus erythematosus; linear immune analysis

系统性红斑狼疮(SLE)是一种累及多器官系统的常见慢性自身免疫性疾病,肾脏和神经系统受累是 SLE 患者最常见的死因^[1]。多种自身抗体都可作为 SLE 的诊断标志物,其中抗 dsDNA 抗体是最常用的诊断指标之一,主要有 3 个基本用途:诊断、评价疗效和判断预后^[2]。目前市面上采用线性免疫分析法定性测定抗 dsDNA 抗体的产品主要来自于德国进口,国内能自主研发生产且质量较好的厂家较少。为了评判四川省新成生物科技有限责任公司生产的赛盟自免抗 dsDNA 抗体检测试剂盒(线性免疫分析法)与进口产品在临床应用上的优劣,作者做了以下研究,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 按照 1997 年美国风湿病学会修订的 SLE 分类诊断标准^[3],收集 SLE 患者血清 50 例设为实验组,其中男 13 例,女 37 例;年龄 18~70 岁,平均 46.5 岁;病程 1~30 年。同期健康体检者 50 例设为对照组,其中男 25 例,女 25 例;年龄 18~71 岁,平均 46.5 岁。组间年龄和性别经统计学分析比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 试剂与主要仪器 主要仪器:TS-3D 脱色摇床(海门市其林贝尔)。A 厂家:赛盟自免抗 dsDNA 抗体检测试剂盒(线

性免疫分析法),批号 0213021;B 厂家:德国某知名厂家生产的抗 dsDNA 抗体检测试剂盒(蛋白印迹法),批号 A-0412。

1.3 方法

1.3.1 阴、阳性符合率分析 采用 A、B 2 个厂家试剂盒分别测定实验组和对照组标本,对结果进行阴、阳性判断,根据临床诊断结果对测定结果进行统计学分析。

1.3.2 一致性分析 采用 A、B 2 个厂家试剂盒分别测定实验组和对照组标本,根据临床诊断结果对测定结果进行 Kappa 一致性统计学分析。

1.4 操作人员要求 经专业上岗培训并且取得相应上岗证的医学检验专业人员。

1.5 统计学方法

1.5.1 阴、阳性符合率分析 根据临床诊断结果,分别计算 2 个厂家的阳性符合率和阴性符合率,并进行比较。

1.5.2 Kappa 一致性统计学分析 采用 Kappa 一致性统计分析方法对检测结果进行分析,当 $0.81 \leq \text{Kappa} \leq 1.00$ 时,证明 2 个厂家产品测定结果具有高度一致性;当 $0.61 \leq \text{Kappa} < 0.81$ 时,证明 2 个厂家产品测定结果具有中度一致性;当 $0.41 \leq \text{Kappa} < 0.61$ 时,证明 2 个厂家产品测定结果间一致性

较弱;当 $0.21 \leq Kappa < 0.41$ 时,证明 2 个厂家产品测定结果间一致性微弱;当 $0.00 \leq Kappa < 0.21$ 时,证明 2 个厂家产品测定结果间一致性极差。

2 结果

2.1 阳、阴性符合率比较 以临床诊断作为实验检测的金标准,计算 A、B 2 个厂家产品检测的阳性符合率和阴性符合率,见表 1。由表 1 可见,实验组 A 厂家阳性符合率大于 B 厂家;对照组 2 个厂家阴性符合率相近。

表 1 两组阳、阴性符合率统计结果[n(%)]

组别	n	A 厂家	B 厂家
实验组	50	44(88.0)	41(82.0)
对照组	50	48(96.0)	47(94.0)

2.2 检测结果一致性分析 以临床诊断作为实验检测的金标准,分别将 2 个厂家的测定结果与临床诊断结果进行 Kappa 一致性分析,见表 2、3。由表 2 可见,A 厂家测定结果与临床诊断结果具有高度一致性,Kappa 系数 0.84;由表 3 可见,B 厂家测定结果与临床诊断结果具有中度一致性 Kappa 系数为 0.78。

表 2 A 厂家测定结果与临床诊断一致性分析

临床诊断	+	-	概率
+	44	6	a1=0.5
-	2	48	a2=0.5
概率	b1=0.46	b2=0.54	n=100

注: + 表示阳性, - 表示阴性。

表 3 B 厂家测定结果与临床诊断一致性分析

临床诊断	+	-	概率
+	41	9	a1=0.5
-	2	48	a2=0.5
概率	b1=0.43	b2=0.57	n=100

注: + 表示阳性, - 表示阴性。

3 讨论

按检测方法、疾病活动度和器官表现的不同,抗 dsDNA 抗体对 SLE 诊断阳性符合率为 30%~90%,在累及肾脏的活动性 SLE 中诊断阳性符合率大于 95%,在未累及肾脏的活动性 SLE 中诊断阳性符合率为 50%~70%,在非活动性 SLE 中诊断阳性符合率小于 40%^[4]。

除作为 SLE 的诊断标志物外,抗 dsDNA 抗体的滴度通常与疾病活动度相关(尤其是狼疮肾炎)^[5-6]。抗 dsDNA 抗体被认为是 SLE 活动度的标志物之一,可用于评价疗效和判断预后。滴度快速增高,尤其是伴有补体水平的降低,常提示病情正在恶化,应密切关注并调整治疗方案^[7-8]。经典的检测方法是以 Hep-2 细胞或短膜虫为底物的间接免疫荧光法,但由于该方法操作复杂以及主观性较高,因此,越来越多的实验室开始采用线性免疫分析法^[9]。

由表 1 可见,实验组采用 A 厂家检测试剂盒的阳性符合率比 B 厂家高,可能是由于 A 厂家在反应原理上未采用天然 dsDNA 作为包被抗原,而是选用了重组纯化质粒,导致在阳性

率上的区别。基因工程的重组技术可以使 dsDNA 上某个特定的结构域得到富集,这种结构域恰恰是自身抗体的特异结合部位。天然的 dsDNA 包含了不同细胞周期的 dsDNA,一方面会受到非特异的结构域影响,另一方面目标结合位点未必能够充分暴露,与待测抗体不能充分结合。由此可见,在筛查 SLE 的时候,应该采用 A 厂家的抗 dsDNA 抗体检测试剂盒,这样可以降低漏诊率。由表 2 可见,A 厂家测定结果与临床诊断结果具有高度一致性;由表 3 可见,B 厂家测定结果与临床诊断结果具有中度一致性。说明 A 厂家测定结果与临床诊断结果更加符合,更加有利于辅助临床诊断 SLE。

线性免疫分析法作为目前自身抗体检测的主流方法之一,优势明显。线性免疫分析法一次测试可以检测多种抗体,同时也适合较少的样本,具有特异性高、敏感度高、所用标本与试剂量较小、分析容量大、可同时检测出多种抗原对应的自身抗体、操作简便、仪器设备要求不高且易于自动化等优点^[10]。市场上已有针对自身抗体的免疫印迹法的全自动分析仪器。

综上所述,四川省新成生物科技有限公司生产的赛盟自免抗 dsDNA 抗体检测试剂盒(线性免疫分析法)与德国某知名厂家的同类上市产品具有等效性,且价格更加便宜,符合临床实验室使用要求。

参考文献

- [1] 赵瑞. 系统性红斑狼疮免疫状态研究进展[J]. 国际儿科学杂志, 2012, 39(4): 390-393.
- [2] 程文静, 李亚萍, 陆前进. 系统性红斑狼疮活动性评价新进展[J]. 国际皮肤性病杂志, 2012, 38(4): 224-227.
- [3] Hochberg MC. Updating the American college of rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus [J]. Arthritis Rheum, 1997, 40(9): 1725.
- [4] 刘旻, 马雅静, 程江. 多项指标检测系统性红斑狼疮的临床意义[J]. 检验医学与临床, 2012, 9(2): 155-156.
- [5] 谢国锦, 钟天鹰. 自身免疫性疾病患者可提取核抗原与体液免疫的关系[J]. 检验医学与临床, 2010, 7(1): 3-4.
- [6] 王鸣军, 陈志伟, 武剑. 免疫吸附治疗重度活动性系统性红斑狼疮的疗效观察[J]. 中国血液流变学杂志, 2012, 22(3): 433-435.
- [7] 张玲, 李慧源, 赵安敏, 等. 自身抗体检测在系统性红斑狼疮诊断中的价值[J]. 检验医学与临床, 2010, 7(2): 116-117.
- [8] 刘婷. 系统性红斑狼疮的免疫学发病机制研究进展[J]. 国际儿科学杂志, 2010, 37(3): 267-269.
- [9] 王涛, 李季青, 陈琳洁, 等. 线性免疫分析法检测 39 例系统性红斑狼疮患者血清抗核抗体谱结果分析[J]. 实用医学杂志, 2007, 23(15): 2426-2427.
- [10] 王健, 江超, 李季青, 等. 166 例 ANA 阳性者血清线性免疫 ANA 谱的结果分析[J]. 中华全科医学, 2012, 10(3): 343-344.