

三种方法检测抗 dsDNA 抗体的比较

佟大伟, 张蜀澜, 李永哲, 胡朝军

【摘要】 目的 比较间接免疫荧光法(IIF)、酶联免疫吸附测定(ELISA)及放射免疫检测法(Farr)检测抗 dsDNA 抗体的敏感性 & 特异性, 为开展临床联合检测寻找合适的方法。方法 收集我院门诊和住院患者血标本共 200 份, 其中包括门诊和住院及后期追踪经临床诊断的系统性红斑狼疮(SLE) 120 份标本、类风湿关节炎(RA) 20 份标本。进行性系统硬化症(PSS) 20 例。混合型结缔组织病(MCTD) 20 例, 干燥综合征(SS) 20 例, 另健康体检者 50 例(全部经排查不具有结缔组织病)同时用以上三种方法检测抗 dsDNA 抗体。结果 用 IIF、ELISA 及 Farr 检测抗 dsDNA 抗体, SLE 患者抗 dsDNA 抗体阳性率分别为 25%、32% 和 32%。RA 患者抗 dsDNA 抗体阳性率均为 0。PSS 患者抗 dsDNA 抗体阳性率分别为 0、0 和 5%。MCTD 病抗 dsDNA 抗体阳性率分别为 0、5% 和 10%。SS 患者抗 dsDNA 抗体阳性率均为 0。健康体检者抗 dsDNA 抗体阳性率均为 0。结论 用两种方法联合检测抗 dsDNA 抗体, 尤其是 IIF 和 ELISA 检测, 能提高单一一种方法对 SLE 患者抗 dsDNA 抗体检出率, 有助于 SLE 的诊断及病情回顾。

【关键词】 免疫荧光技术, 间接; 酶联免疫吸附测定; 放射免疫检测; 抗体, 抗核

The comparison of the three anti-dsDNA antibody detecting test TONG Da-wei, ZHANG Shu-lan, LI Yong-zhe, HU Chao-jun. Clinical Laboratory of Peking Union Medical College Hospital, Beijing 100073, China

Corresponding author: TONG Da-wei, Email: dawei_tong@163.com, Tel: (010)88068108

【Abstract】 Objective To compare the three Anti-dsDNA antibody detecting test (IIF, ELISA, Farr) with 200 serum samples to evaluate which one has higher sensitivity and specificity. **Methods** 200 serum samples including 120 serum samples of SLE, 20 serum samples of rheumatoid arthritis, 20 serum samples of MCTD, 20 serum samples of SS; 20 serum samples of PSS and 50 serum samples of healthy measured by IIF, Farr and ELISA. **Results** Detection the Anti-dsDNA antibody of the serum sample with the methods of IIF, ELISA and Farr. The positive percentage of Anti-dsDNA in SLE is 25%, 32% and 32%, while in RA is 0, 0 and 0; in PSS is 0, 0 and 5%; in SS is 0, 0 and 0; in healthy is 0, 0 and 0. **Conclusion** Detection the Anti-dsDNA antibody with two method in the same time, especially with IIF and ELISA, will heighten the positive rate than with single method and will be helpful for the diagnosis of SLE.

【Key words】 Fluorescent antibody technique; Enzyme-linked immunosorbent assay; Radioimmunoassay; Antibodies, antinuclear

抗 dsDNA 抗体是 SLE 比较特异的抗体, 是 SLE 的诊断标准之一, 与 SLE 的肾损害相关, 是评价 SLE 疾病活动指标之一^[1]。常用的检测方法是以马疫锥虫或短膜虫为底物的间接免疫荧光法(IIF), 现在还有放射免疫检测法(Farr)和酶联免疫吸附测定(ELISA)应用到临床检测。现将三种检测方法做以下比较。

1 对象与方法

1.1 对象 2005 年 8 月收集我院门诊和住院患者血清标本共 200 份, 其中包括门诊和住院及后期追踪经临床诊断的 SLE 120 份标本、RA 20 份标本、PSS 20 例、MCTD 20 例, 另健康体检者 50 例(全部经排查不具有结缔组织病)。SLE 的诊断符合 1982 年美国风湿病学会的诊断标准。RA 诊断符合美国风湿病学会 1987 年诊断标准^[2]。

1.2 试剂和仪器 IIF 和 ELISA 所用试剂均采用德国欧蒙公司产品, Farr 试剂由中科院原子能所提供。酶标仪(美国 Bio-Rad 公司), 荧光显微镜(德国 Leica

公司); γ 射线计数仪(美国 Amme 公司);洗板机(美国 Bio-Rad 公司)。

1.3 方法 严格按照实验操作说明书操作。

1.4 结果判断 IIF 阳性以短膜虫动基体出现黄绿色荧光为阳性;ELISA 按照试剂盒说明,作 3 个标准,以吸光度大于第二个标准吸光度为阳性;Farr 以结合率大于 20% 为阳性。

2 结果

用 IIF、ELISA 和 Farr 对我们收集的 200 份血清标本进行检测。其中包括门诊和住院及后期追踪经临床诊断的 SLE 120 份标本、RA 20 份标本、PSS 20 例、MCTD 20 例、健康体检者 50 例。三种检测方法检测各组的抗 dsDNA 抗体的阳性率的结果见表 1。

表 1 三种方法检测各组抗 dsDNA 抗体的阳性率

Tab.1 The positive percentage of Anti-dsDNA antibody by three methods

组别 Group	例数 n	IIF		ELISA		Farr	
		阳性数 Positive No.	阳性率 Positive rate(%)	阳性数 Positive No.	阳性率 Positive rate(%)	阳性数 Positive No.	阳性率 Positive rate(%)
SLE	120	30	25	38	32	38	32
RA	20	0	0	0	0	0	0
PSS	20	0	0	0	0	1	5
SS	20	0	0	0	0	0	0
MCTD	20	0	0	1	5	2	10
健康体检者	50	0	0	0	0	0	0

从表 1 的结果,我们可以比较三种方法在检测抗 dsDNA 抗体时的敏感性和特异性。从我们的数据来看:ELISA 和 Farr 在诊断 SLE 的敏感性(表 1)(32%, 32%)要高于 IIF(25%);而后的特异性要高于前两者。三种方法完全符合的为 20.8%(图 1)。可见,联合检测的准确率要高于单种方法检测。

3 讨论

抗 dsDNA 抗体是 SLE 标志性抗体,抗 dsDNA 抗体是诊断及判断 SLE 患者疾病活动性的重要指标之一,与 SLE 肾损害相关。在某些临床诊断为 MCTD 和 PSS 的患者也检出抗 dsDNA 阳性,可能与全身结缔组织受累有关。也有些学者认为抗 dsDNA 抗体虽是 SLE 标志性抗体,但抗 dsDNA 抗体阳性并不能代表其具有活动性,只有在 SLE 患者存在高滴度的抗 dsDNA 抗体时,才可能与其活动性有关,这就对实验室抗 dsDNA 抗体检测提出更高的要求^[3]。

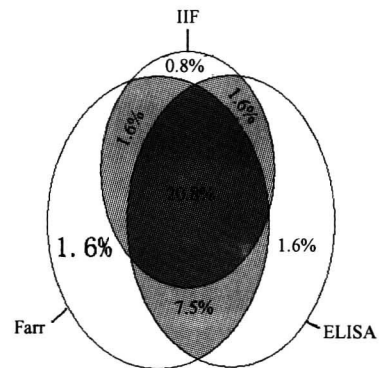


图 1 SLE 患者血清三种方法检测抗 dsDNA 抗体比较

Fig.1 The comparison of the three anti-dsDNA antibody detecting test in SLE serum

在我们比对的这三种方法中,以短膜虫为基质的 IIF 检测抗 dsDNA 抗体是较经典的方法,特异性较好,但相对敏感性不高,且阳性主观判断较强。其他两种方法相对敏感性高一些。Farr 早期也是常用的检测抗 dsDNA 抗体的方法,其敏感性相对高于 IIF 检测方法,两者在亲和力上有一定的差异。IIF 对低亲和力抗 dsDNA 抗体敏感,Farr 试验对高亲和力抗 dsDNA 抗体敏感。但 Farr 采用的¹²⁵I-dsDNA 很容易变性,有些学者做过统计,¹²⁵I-dsDNA 含 1% 的 ssDNA 就会导致 6% 的假阳性,两种方法联合检测能提高对抗 dsDNA 抗体的敏感性,ELISA 检测抗 dsDNA 抗体和放射免疫法敏感性很接近,却能避免了放射免疫法的放射性核素污染,且可以依照其试剂盒提供的标准对检测样本进行定量,相对避免人为误差,检验结果连续性较高。因此采用 ELISA 和 IIF 联合检测抗 dsDNA 抗体,能够弥补单一方法的不足,给临床提供更加真实而准确的报告,为患者诊断和治疗提供帮助,值得临床应用和推广。

4 参考文献

- [1] Bombardier C, Gladman DD, Urowitz MB, et al. Derivation of the SLE: a disease activity index for lupus patients. *Arthritis Rheum*, 1992, 35: 630-640.
- [2] Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, 1988, 31:315-324.
- [3] Lopez-Hoyos M, Cabeza R. Clinical disease activity and titers of anti-dsDNA antibodies measured by an automated immunofluorescence assay in patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus*, 2005, 14:505-509.

(收稿日期:2008-11-12)