

## 抗可提取性核抗原抗体蛋白质微阵列芯片的 临界参考值研究

喻长杰<sup>1</sup> 柳飞舟<sup>2</sup> 曹成喜<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> 上海交通大学生命科学技术学院, 上海 200030; <sup>2</sup> 上海铭源数康生物芯片有限公司, 上海 204103)

**摘要 目的** 建立自身抗体蛋白质微阵列芯片化学发光法的临界参考值研究方法。**方法** 利用阳性对照品和“临界值公司一级参考品”的信号比值确定各自身抗体指标的“临界值系数”, 利用每次实验中阳性对照品的信号值与“临界值系数”确定各自身抗体指标的临界参考值(cut-off), 并对实验结果作判定。**结果** 利用此方法确定的抗可提取性核抗原(ENA)抗体蛋白质微阵列芯片的临界参考值, 使产品中各指标的检测特异度均达到98.75%以上, 产品在混合性结缔组织病、系统性红斑狼疮、干燥综合征、进行性系统硬化症、多肌炎/皮肌炎病例样本中阳性检出率分别达到了100%、100%、95.56%、100%、100%和100%。**结论** 本研究建立的自身抗体蛋白质微阵列芯片化学发光法临界参考值确定方法是科学合理的, 有效地消除了实验过程中人为因素, 判定结果具有可靠性、可重复性。

**关键词** 自身抗体; 蛋白质微阵列芯片; 化学发光法; 自身免疫性疾病; 临界参考值

**中图分类号**: TQ937 **文献标志码**: A **文章编号**: 1000-9760(2012)12-392-05

### The study of protein microarray chip criticality reference values of anti-extractability-nucleoantigen(ENA) antibody

YU Chang-jie, LIU Fei-zhou, CAO Cheng-xi

(Department of Life Science and Biotechnology, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200030, China)

**Abstract: Objective** To establish a method for determining the criticality reference values of a protein chip system (protein microarray with chemiluminescence method) for the detection of auto-antibodies. **Methods** The signal ratios of the positive control sample and the first degree cutoff reference material from the manufacturer were used to obtain the “cutoff index” for each auto-antibody biomarker. The “cutoff index” was then used together with the actual signal in each experiment to determine the actual cutoff value for each auto-antibody biomarker. These cutoff values were then used to determine the positive and negative results for each biomarker in the experiment. **Results** When the clinical cutoff values established using above method were used in a protein microarray system for the detection of anti-extractable nuclear antigens(ENA) antibodies, specificities for each auto-antibody were all above 98.75%. The positive detection rates for mixed connective tissue diseases, systemic lupus erythematosus, Sjogren syndrome, progressive systemic sclerosis, polymyositis/dermatomyositis were 100%, 100%, 95.56%, 100%, 100% and 100% respectively. **Conclusion** This study has established a valid method for the determination of cutoff values for a protein microarray system for the detection of auto-antibodies. This method eliminates the influence of human factors during the experiment and thus helps achieve reliable and repeatable results.

**Key words**: Autoantibody; Protein microarray; Chemiluminescence method; Autoimmune disease; Cutoff reference value.

随着人们对自身免疫性疾病(autoimmune diseases, AID)的研究深入, 发现自身免疫性疾病累及全身各个系统<sup>[1]</sup>, 种类多达40余种<sup>[2]</sup>, 自身免疫性疾病患者中, 有很大一部分病人的血清或其它体液中可检测到一种或多种高效价的自身抗体<sup>[3]</sup>,

自身抗体数量达到上百种<sup>[4]</sup>。自身抗体检测对AID的辅助诊断、病情评估、疗效监测以及预后判断均具有重要的临床应用价值<sup>[5]</sup>。蛋白芯片微阵列技术(Protein Microarray)作为一种高通量、高灵敏度、特异性强、快速便捷的检测分析方法, 在以

自身抗体为特征的自身免疫性疾病的诊断、鉴别与筛查中得到了广泛应用,目前常见的商业化蛋白质微阵列芯片技术检测平台有 FIDIS(微珠芯片)<sup>[6]</sup>, AtheNA(微珠芯片)<sup>[7]</sup>, Luminex 和 Bio-Rad 等公司研发的自身抗体检测系统<sup>[8]</sup>。利用蛋白质微阵列芯片技术检测样本所得测量值是连续的数值,临界参考值的确定对检测结果的判断有密切关系,也直接影响蛋白质微阵列芯片技术的灵敏度与特异度,因而临界参考值的研究在蛋白质微阵列芯片技术平台中至关重要。本研究在已建立的用于检测抗可提取性核抗原抗体蛋白质微阵列芯片(以下简称 I-6 试剂盒,利用蛋白芯片微阵列技术和化学发光技术同时对多个待测样本并行检测 Jo-1、SSA、SSB、Sm、Scl-70、RNP 等 6 种抗 ENA 抗体的自身抗体谱检测试剂盒)的平台上,建立了一种临界值确定方法。

## 1 资料和方法

### 1.1 一般资料

实验用血清样本分别来源于上海交通大学附属仁济医院、无锡市第二人民医院、浙江大学第二附属医院、第二军医大学附属长征医院门诊及住院患者,共计 730 例,其中健康人血清 380 例,AID 患者血清 350 例。空腹采集外周血 2~5ml,无溶血,无血脂,2000rpm/min(离心半径为 16cm)离心 8min,分离血清,4℃保存。

### 1.2 试剂和仪器

I-6 试剂盒、Lu-07 生物芯片阅读仪来源于上海铭源数康生物芯片有限公司;实验对照试剂 ENA/ANA 组合(IgG)欧蒙斑点法检测试剂盒(ENA 组合)来源于欧蒙(杭州)医学实验诊断有限公司;阳性对照品、灵敏度参考品、临界值公司一级参考品、样本稀释液均由上海铭源数康生物芯片有限公司制备。

### 1.3 方法

**1.3.1 I-6 芯片反应操作步骤** 1)样本准备:人血清,或 EDTA、肝素或柠檬酸盐抗凝的血浆;2)样本稀释:用样本缓冲液 1:100 稀释,如可取 10μl 血清用 1.0ml 样本缓冲液稀释并混匀;3)加样:加入已稀释的血清样本各 100μl 至芯片孔中,同时在芯片内做 1 孔阳性对照,1 孔阴性对照;4)温育第 1 次:在摇床中 37℃、250rpm,反应 30min;5)洗膜:甩尽芯片孔内液体,稍做清洗,装入洗盒中,摇床 250rpm,洗涤 8min,洗 2 次,拍干;6)加样:每孔加入 100μl 反应液(辣根过氧化物酶标记的抗人

IgG);7)温育第 2 次:在摇床中 37℃、250rpm,反应 30min;8)洗膜:甩尽芯片孔内液体,稍做清洗,装入洗盒中,摇床 250rpm,洗涤 8min,洗 2 次,拍干;9)发光:将检测液 A、B 取适量 1:1 混匀,加入芯片中,每孔 20μl;10)读取信号:立刻放入 LU-07 生物芯片阅读仪中,拍摄 1min,保存图片。使用软件对图片进行处理,读出数据。

**1.3.2 ENA/ANA 组合(IgG)欧蒙斑点法检测试剂盒(ENA 组合)和 Lu-07 生物芯片阅读仪的操作方法** 按照各自说明书进行操作。

**1.3.3 临界值公司一级参考品的制备方法** 1)选取 Jo-1、SSA、SSB、Sm、Scl-70、RNP 等 6 种指标单个或多个阳性的血清,利用健康人阴性血清进行稀释,使稀释后的血清中每个指标在 ENA/ANA 组合(IgG)欧蒙斑点法检测试剂盒(ENA 组合)检测结果均为弱阳性。2)对稀释得到每个指标弱阳性血清,再用健康人阴性血清按稀释度 5、5/2、5/3、5/4 稀释。3)将稀释后的血清,用样品稀释液以 1:100 稀释后进行 I-6 芯片反应,各指标弱阳性血清的各稀释度重复反应 10 孔。4)选取 300 份健康人阴性血清,用样品稀释液以 1:100 稀释后进行 I-6 芯片反应。5)对实验结果按照 1.4.1 统计学处理,选择每个指标的最佳稀释度。6)按照每个指标的最佳稀释度配制成各指标的“临界值公司一级参考品”,-80℃低温保存备用。

**1.3.4 临界系数的确定方法** 1)选取阳性对照品进行 I-6 芯片反应,重复反应 10 孔。2)选取各指标的“临界值公司一级参考品”进行 I-6 芯片反应,各个重复反应 2 孔。3)对实验结果按照 1.4.2 统计学处理,计算得到各指标的临界系数。4)选取 10 阳性血清、10 健康人阴性血清、10 灵敏度参考品进行 I-6 芯片反应,利用得到的“临界系数”对实验结果进行判断,对“临界系数”进行验证。

**1.3.5 I-6 试剂盒临床初步评价** 1)选取 80 份健康人血清进行 I-6 芯片反应,利用得到的“临界系数”对实验结果进行判断。2)选到 57 份多发性肌炎和皮肌炎血清样本、45 份干燥综合征血清样本、54 份混合性结缔组织病血清样本、79 份系统性红斑狼疮血清样本及 45 份系统性硬化症,共计阳性样本数 280 例。进行 I-6 芯片反应,利用得到的“临界系数”对实验结果进行判断。3)对实验结果按照 1.4.3 统计学处理。

### 1.4 统计学处理

**1.4.1 临界值公司一级参考品的制备过程中统计学处理** 1)300 份阴性血清与芯片反应的信号值

数据的分布属偏态,客观而简便的方法是采用百分位数法。百分位数的计算公式为:

$$P_r=L+\frac{W}{f}(\frac{n\times r}{100}-C)$$

式中  $P_r$  为第  $r$  百分位数,  $L$  为第  $r$  百分位数所在组的下限,  $W$  为第  $r$  百分位数所在组的宽度,  $f$  为第  $r$  百分位数所在组的频数,  $n$  表示总频数,  $C$  为第  $r$  百分位数所在组的前一组的累计频数。2) 对各指标弱阳性血清 4 的每个稀释度 10 孔的信号值计算平均值  $\bar{x}_{\text{样品}}$ , 标准差  $S_{\text{样品}}$ 。3) 比较各个指标 4 个不同稀释度的  $\bar{x}_{\text{样品}}-2S_{\text{样品}}$  值与  $P_r$  值, 以最接近于  $P_r$  值的那个稀释度作为制备为临界值参考品浓度。

**1.4.2 临界系数的确定统计学处理** 1) 计算阳性对照品的各个指标信号值平均值  $\bar{x}_{\text{阳性}}$ ; 2) 计算“临界值公司一级参考品”的各个指标信号值平均值  $\bar{x}_{\text{临界}}$ ; 3) 指标临界值系数=阳性对照品中该指标信号值的平均值( $\bar{x}_{\text{阳性}}$ )/该指标临界值参考品信号值的平均值( $\bar{x}_{\text{临界}}$ )。

**1.4.3 临床初步评价统计学处理** 采用“2×2”四格表计算 I-6 试剂盒中各个指标的特异度和在各自身免疫疾病中的灵敏度。

2 结果

2.1 临界值公司一级参考品制备实验结果

在临界值公司一级参考品制备过程中各指标弱阳性血清稀释度选择实验结果见表 1。

表 1 各指标弱阳性血清稀释度选择实验结果

| 指标名称   | 300 份阴性血清的百分位信号值 |          | 弱阳性血清各稀释度的 $\bar{x}_{\text{样品}}-2S_{\text{样品}}$ 信号值 |     |     |     |
|--------|------------------|----------|-----------------------------------------------------|-----|-----|-----|
|        | $P_{95}$         | $P_{99}$ | 5                                                   | 2/5 | 3/5 | 4/5 |
| Jo-1   | 290              | 304      | 240                                                 | 323 | 387 | 493 |
| Scl-70 | 283              | 295      | 123                                                 | 322 | 384 | 510 |
| RNP    | 263              | 274      | 177                                                 | 204 | 290 | 386 |
| Sm     | 255              | 265      | 218                                                 | 309 | 373 | 488 |
| SSA    | 236              | 244      | 154                                                 | 204 | 270 | 380 |
| SSB    | 363              | 374      | 344                                                 | 399 | 507 | 595 |

从表 1 实验结果数据可知,在“临界值公司一级参考品”制备过程中 Jo-1、Scl-70、Sm、SSB 等四个指标选择弱阳性血清的 2/5 稀释度; RNP 和 SSA 指标选择弱阳性血清的 3/5 稀释度。

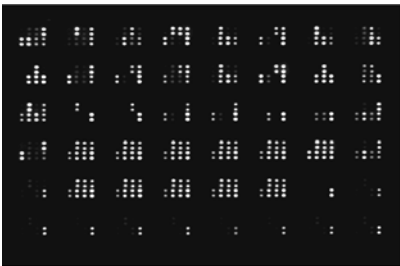
2.2 临界系数及临界系统验证结果

临界系数实验结果见表 2。

表 2 阳性对照品各指标临界系数

| 指标         |                                           | JO-1 | SCL-70 | RNP  | SM   | SSA  | SSB  |
|------------|-------------------------------------------|------|--------|------|------|------|------|
| 阳性对照品      | $\bar{x}_{\text{阳性}}$                     | 1063 | 1418   | 779  | 988  | 1397 | 2277 |
| 临界值公司一级参考品 | $\bar{x}_{\text{临界}}$                     | 293  | 298    | 281  | 281  | 259  | 395  |
| 临界系数       | $\bar{x}_{\text{阳性}}/\bar{x}_{\text{临界}}$ | 3.63 | 4.76   | 2.77 | 3.52 | 5.39 | 5.77 |

临界系数验证实验结果见图 1 和表 3。



第 1~3 排为阳性血清反应孔 第 8 排为阴性血清反应孔  
第 A4、H4 为阳性血清反应孔 第 B4~F4 和第 B5~F5 为灵敏度质控品反应孔  
第 G4 为阳性对照品反应孔 第 A5、G5、H5 为阴性血清反应孔

图 1 临界系数验证发光图

表 3 临界系数验证各反应孔信号及阴阳性判断结果

|      | JO-1    | Scl-70  | RNP     | Sm      | SSA     | SSB    | 备注    |
|------|---------|---------|---------|---------|---------|--------|-------|
| G4   | 1736    | 1482    | 2038    | 1968    | 1987    | 1562   | 阳性对照品 |
| 临界系数 | 3.63    | 4.76    | 2.77    | 3.52    | 5.39    | 5.77   |       |
| 临界信号 | 478     | 312     | 735     | 559     | 368     | 271    |       |
| A1   | 195(-)  | 311(-)  | 2568(+) | 2068(+) | 2445(+) | 684(+) | 阳性血清  |
| A2   | 39(-)   | 2663(+) | 49(-)   | 47(-)   | 1787(+) | 1832   | 阳性血清  |
| A3   | 2491(+) | 91(-)   | 920(+)  | 776(+)  | 1557(+) | 1873   | 阳性血清  |
| B1   | 2203(+) | 134(-)  | 1666(+) | 108(-)  | 255(-)  | 225(-) | 阳性血清  |
| B2   | 151(-)  | 71(-)   | 2036(+) | 2045(+) | 285(-)  | 169(-) | 阳性血清  |
| B3   | 863(+)  | 13(-)   | 38(-)   | 21(-)   | 36(-)   | 43(-)  | 阳性血清  |
| C1   | 174(-)  | 1194(+) | 182(-)  | 144(-)  | 1471(+) | 443(+) | 阳性血清  |
| C2   | 19(-)   | 731(+)  | 1470(+) | 1166(+) | 106(-)  | 29(-)  | 阳性血清  |
| C3   | 12(-)   | 796(+)  | 25(-)   | 22(-)   | 20(-)   | 23(-)  | 阳性血清  |
| D1   | 1397(+) | 1976(+) | 2141(+) | 1485(+) | 219(-)  | 63(-)  | 阳性血清  |

|    |         |         |         |        |         |         |        |
|----|---------|---------|---------|--------|---------|---------|--------|
| A5 | 172(—)  | 59(—)   | 62(—)   | 57(—)  | 39(—)   | 128(—)  | 阴性血清   |
| A6 | 99(—)   | 43(—)   | 41(—)   | 53(—)  | 27(—)   | 65(—)   | 阴性血清   |
| B6 | 62(—)   | 28(—)   | 38(—)   | 34(—)  | 19(—)   | 55(—)   | 阴性血清   |
| C6 | 118(—)  | 42(—)   | 43(—)   | 52(—)  | 31(—)   | 100(—)  | 阴性血清   |
| D6 | 87(—)   | 36(—)   | 31(—)   | 34(—)  | 23(—)   | 57(—)   | 阴性血清   |
| E6 | 55(—)   | 33(—)   | 25(—)   | 40(—)  | 21(—)   | 76(—)   | 阴性血清   |
| F6 | 66(—)   | 27(—)   | 35(—)   | 42(—)  | 22(—)   | 48(—)   | 阴性血清   |
| G5 | 10(—)   | 10(—)   | 12(—)   | 15(—)  | 10(—)   | 14(—)   | 阴性血清   |
| G6 | 101(—)  | 37(—)   | 37(—)   | 45(—)  | 30(—)   | 70(—)   | 阴性血清   |
| H5 | 93(—)   | 39(—)   | 35(—)   | 54(—)  | 40(—)   | 113(—)  | 阴性血清   |
| H6 | 91(—)   | 41(—)   | 37(—)   | 50(—)  | 39(—)   | 114(—)  | 阴性血清   |
| B4 | 1068(+) | 1083(+) | 1051(+) | 713(+) | 1431(+) | 1301(+) | 灵敏度质控品 |
| B5 | 1052(+) | 1094(+) | 986(+)  | 700(+) | 1413(+) | 1288(+) | 灵敏度质控品 |
| C4 | 1078(+) | 1128(+) | 984(+)  | 738(+) | 1459(+) | 1306(+) | 灵敏度质控品 |
| C5 | 954(+)  | 931(+)  | 902(+)  | 629(+) | 1276(+) | 1124(+) | 灵敏度质控品 |
| D4 | 953(+)  | 967(+)  | 941(+)  | 585(+) | 1343(+) | 1163(+) | 灵敏度质控品 |
| D5 | 929(+)  | 959(+)  | 872(+)  | 588(+) | 1311(+) | 1136(+) | 灵敏度质控品 |
| E4 | 981(+)  | 983(+)  | 889(+)  | 651(+) | 1345(+) | 1134(+) | 灵敏度质控品 |
| E5 | 978(+)  | 1026(+) | 926(+)  | 669(+) | 1456(+) | 1213(+) | 灵敏度质控品 |
| F4 | 913(+)  | 949(+)  | 894(+)  | 702(+) | 1359(+) | 1141(+) | 灵敏度质控品 |
| F5 | 943(+)  | 1039(+) | 1002(+) | 654(+) | 1426(+) | 1234(+) | 灵敏度质控品 |

从表 3 数据可知,经确定的阳性对照品临界值系数在芯片实验结果判断时是有效的,其阴性符合率为 100%,阳性符合率为 100%,灵敏度质控品检出率也达到了 100%。

2.3 I-6 试剂盒临床初步评价结果

2.3.1 I-6 试剂盒中各指标的特异度 见表 4。

表 4 各指标的特异度和 I-6 试剂盒的总特异度统计结果

| 各指标     | 受检人数(对照组) | 阴性数 | 特异度(%) |
|---------|-----------|-----|--------|
| JO-1    | 80        | 80  | 100    |
| Scl-70  | 80        | 80  | 100    |
| RNP     | 80        | 80  | 100    |
| Sm      | 80        | 80  | 100    |
| SSA     | 80        | 79  | 98.75  |
| SSB     | 80        | 80  | 100    |
| I-6 试剂盒 | 80        | 79  | 98.75  |

I-6 试剂盒对 80 例正常人血清样本检测结果为:SSB/La、Jo-1、RNP、Scl-70、Sm 等五个指标的阴性检出率达到 100%,SSA/Ro 指标的阴性检出率达到 98.75%,I-6 试剂盒总的阴性检出率达到 98.75%。这说明了通过本研究方法确定的临界值使 I-6 试剂盒具有很高的检测特异性,完全满足临床应用要求。

2.3.2 I-6 试剂盒中各指标在疾病中阳性检出率 见表 5。

从表 5 数据可知,通过本研究方法确定的临界值使 I-6 试剂盒在混合性结缔组织病、系统性红斑狼疮、干燥综合征、进行性系统硬化症、多肌炎/皮肤炎病例样本中阳性检出率分别达到了 100%、100%、95.56%、100%、100% 和 100%,具有了很

高的临床应用价值。

表 5 各指标阳性检出率和 I-6 试剂盒的总阳性检出率统计结果

|         |      | 多肌炎/<br>皮肤炎 | 干燥综<br>合征 | 混合性<br>结缔<br>组织病 | 系统性<br>红斑<br>狼疮 | 系统性<br>硬化症 | 总计    |
|---------|------|-------------|-----------|------------------|-----------------|------------|-------|
| 病例数     |      | 57          | 45        | 54               | 79              | 45         | 280   |
| Scl-70  | JO-1 | 阳性数         | 55        | 1                | 4               | 2          | 1     |
|         | 百分比% | 96.49       | 2.22      | 7.41             | 2.53            | 2.22       |       |
|         | 阳性数  | 0           | 3         | 4                | 3               | 42         |       |
| RNP     | 百分比% | 0           | 6.67      | 7.41             | 3.8             | 93.33      |       |
|         | 阳性数  | 13          | 8         | 44               | 59              | 15         |       |
|         | 百分比% | 22.81       | 17.78     | 81.48            | 74.68           | 33.33      |       |
| Sm      | 阳性数  | 0           | 3         | 17               | 56              | 6          |       |
|         | 百分比% | 0           | 6.67      | 31.48            | 70.89           | 13.33      |       |
|         | 阳性数  | 44          | 35        | 36               | 66              | 39         |       |
| SSA     | 百分比% | 77.19       | 77.78     | 66.67            | 83.54           | 86.67      |       |
|         | 阳性数  | 10          | 36        | 14               | 23              | 16         |       |
|         | 百分比% | 17.54       | 80        | 25.93            | 29.11           | 35.56      |       |
| I-6 试剂盒 | 阳性数  | 57          | 43        | 54               | 79              | 45         | 278   |
|         | 阳性率% | 100         | 95.56     | 100              | 100             | 100        | 99.29 |

3 讨论

临界值是体外诊断试剂的重要指标之一,也是产品在临床使用中判断被检测样本是否正常的重要依据。在夹心法抗体抗原反应中,传统的阳性判定方法为阳性判定值、标本/阴性对照比值两种。阳性判定值方法:阴性对照 A 值加上一个特定的常数 K,以此作为判断结果阳性或阴性的标准。适用此方法的条件必为:1)实验条件十分恒定,试剂的制备必须标准化;2)实验操作必须标准化,并且能达到恒定;3)实验仪器精密,运行稳定;4)阴性对

照品的制备必须符合一定的规格与要求;5)常数 K 是在此稳定的检测系统中通过对大量标本的实验检测而得到,且标本的选择必须具有代表性。很显然,对于蛋白芯片—化学发光法的检测系统来说选择阳性判定值方法来判断检测结果的阳、阴性是不可取的。标本/阴性对照品比值法(S/N):在一次实验中,当标本信号 S 与阴性对照品信号 N 的比值大于 A 值时,则检测结果判断为阳性,否则为阴性。虽然此方法对检测系统稳定性和试剂标准化要求适应性更强一些,但阴性对照品的制备要求更高,且必须是待检样本体系一致。在自身免疫性疾病的自身抗体检测中,阴性对照品血清的选择是极为困难的,用此方法判断检测结果必将会影响产品的灵敏度与特异性。

在自身抗体蛋白质微阵列芯片的临界值研究中,有文献报道<sup>[9-10]</sup>,利用 Human IgG 的浓度—灰度标准曲线,选取各个自身抗体指标的临界值范围内所有共有的最低灰度值所对应的 Human IgG 的浓度作为临界值对照品的浓度,当被测样本中自身抗体指标的信号值大于临界值对照品信号值时,结果判断为阳性,反之,则结果判断为阴性。也有文献报道<sup>[11]</sup>,通过大量健康人阴性血清检测实验,利用统计学数据处理方法,计算出每个自身抗体指标的临界信号值,在此后的实验过程中,当某指标的检测信号值大于该指标的临界信号值时,结果判断为阳性,反之,则结果判断为阴性。在这两种自身抗体蛋白质微阵列芯片的临界值研究中,前者利用 Human IgG 的浓度—灰度曲线有替代各个自身抗体指标的浓度—灰度曲线是否合理,是值得商榷的。后者将每次实验过程中引入的信号波动忽略不计,这与在蛋白质微阵列芯片化学发光法实验过程中由于实验操作不能标准化、人为因素较大而导致实验信号波动较大的事实不相符合。

在本研究中,“临界值公司一级参考品”是通过大量临床样本实验,利用统计学方法进行数据处理,并按照严格的原材料选择标准,标准化生产工艺规程制备而成,其结果判定可靠的、质量稳定的。利用阳性对照品与“临界值公司一级参考品”建立起来的“临界系数”方法,有效地消除每次实验操作时引入的信号偏差对检测结果判断的影响,更为突出的是每一次检测结果的判断均与“临界值公司一级参考品”建立了联系。通过本研究确定的 I-6 试

剂盒的临界值确定方法,在运用该产品检测 360 例临床样本,实验结果显示各个指标的检测特异度均达到 98.75% 以上,I-6 试剂盒的检测特异度也达到 98.75%,且 I-6 试剂盒在混合性结缔组织病、系统性红斑狼疮、干燥综合征、进行性系统硬化症、多肌炎/皮肌炎病例样本中阳性检出率分别达到了 100%、100%、95.56%、100%、100% 和 100%。与传统的 IIF 法和 ELISA 法的相同试剂盒相比,无显著性差异,均具有较高的符合率。

#### 参考文献:

- [1] Davidon A, Diamond B. Autoimmune diseases[J]. N Engl J Med, 2001, 345(5): 340-350.
- [2] Von Muhlen CA, Tan EM. Autoantibodies in the diagnostics of systemic rheumatic diseases[J]. Semin Arthritis Rheum, 1995, 24(5): 323-358.
- [3] Sherer Y, Gorstein A, Fritzler MJ, et al. Autoantibody explosion in systemic lupus erythematosus: more than 100 different antibodies found in SLE patients[J]. Semin Arthritis Rheum, 2004, 34(2): 501-537.
- [4] Hu CJ, Zhang FC, Li YZ, et al. Primary biliary cirrhosis: what do autoantibodies tell us? [J] World J Gastroenterol, 2010, 16(29): 3616-3629.
- [5] Kavanaugh A, Tomar R, Reveille J, et al. Guidelines for clinical use of the antinuclear antibody test and tests for specific autoantibodies to nuclear antigens[J]. Arch Pathol Lab Med, 2000, 124(1): 71-81.
- [6] Buliard A, Fortenfant F, Ghillani-Dalbin P, et al. Analysis of nine autoantibodies associated with systemic autoimmune diseases using the Luminex technology. Results of a multicenter study[J]. Ann Biol Clin(Pairs), 2005, 63(1): 51-58.
- [7] Shovman O, Gilburd B, Barzilai O, et al. Evaluation of the BioPlex 2200 ANA Screen. Analysis of 510 health subjects: incidence of natural/predictive autoantibodies[J]. Ann N Y Acad Sci, 2005, 1050: 380-388.
- [8] Hatmann M, Roceraade J, Stoll D, et al. Protein microarrays for diagnostic assays[J]. Anal Bioanal Chem, 2009, 393(5): 1407-1416.
- [9] 王国强,高雪芹,韩金祥,等.自身抗体检测蛋白芯片制备条件的优化及初步应用[J].生物工程学报, 2008, 24(8): 1496-1504.
- [10] Feng YF, Ke X, Ma RS, et al. Parallel detection of Autoantibodies with Microarrays in Rheumatoid Diseases [J]. Clin Chem, 2004, 50(2): 416-422.
- [11] 李永哲,赵智贤,佟大伟,等.蛋白芯片技术在自身抗体检测中的应用[J].中华检验医学杂志, 2006, 29: 1116-1119.

(收稿日期 2012-11-15)