

- [4] Garcia-Tsao G. Spontaneous bacterial peritonitis: a historical perspective[J]. J Hepatol, 2004, 41(4): 522-527.
- [5] Tandon P, Garcia-Tsao G. Bacterial infections, sepsis, and multiorgan failure in cirrhosis[J]. Semin Liver Dis, 2008, 28(1): 26-42.
- [6] Elefsoniotis IS, Skounakis M, Vezali E, et al. Clinical significance of serum procalcitonin levels in patients with acute or chronic liver disease[J]. Eur J Gastroenterol Hepatol, 2006, 18(5): 525-530.
- [7] Papp M, Vitalis Z, Altorkay I, et al. Acute phase proteins in the diagnosis and prediction of cirrhosis associated bacterial infections[J]. Liver Int, 2012, 32(4): 603-611.

• 经验交流 •

免疫印迹法与放射免疫法检测抗谷氨酸脱羧酶抗体结果的比较

陈美才, 张玲, 王雯娟, 肖晗, 韦丽丽, 李玲

(广州金域医学检验中心, 广东广州 510100)

摘要:目的 比较免疫印迹法和放射免疫法测定抗谷氨酸脱羧酶抗体(GAD-Ab)的结果。方法 分别采用免疫印迹法和放射免疫法检测 50 例 2 型糖尿病(T2DM)患者和 50 例健康对照者血清中的 GAD-Ab。结果 免疫印迹法检测 GAD-Ab 的灵敏度为 6%, 特异度为 100%, 放射免疫分析检测 GAD-Ab 的灵敏度为 20%, 特异度为 98%。2 种方法灵敏度差异有统计学意义($P < 0.05$), 但特异度差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论 不同的方法学之间, 检测结果差异较大, 临床医生应结合患者临床表现及其他检查项目综合分析做出正确的判断。

关键词:谷氨酸脱羧酶; 糖尿病自身抗体; 糖尿病

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.22.059

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2014)22-3132-02

糖尿病是胰岛素分泌或胰岛素作用缺陷引起的一组以高血糖为特征的代谢性疾病, 在我国有较高的发病率, 及时诊断、合理治疗、控制并发症的发生对糖尿病患者具有重要意义。本研究通过分析免疫印迹法与放射免疫分析法检测 2 型糖尿病(T2DM)患者及健康人血清中抗谷氨酸脱羧酶抗体(GAD-Ab)的结果, 探讨其方法学之间的差异, 为临床医生正确使用、解读报告, 诊断与治疗糖尿病提供了依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2011 年 6 月至 2012 年 6 月送至本中心检测 GAD-Ab、临床诊断为 T2DM 的患者血清标本 50 例(T2DM 组), 糖尿病的分型与诊断标准均符合 1997 年美国饮食协会及 1999 年世界卫生组织推荐的 T2DM 诊断标准。选取健康体检人群血清标本 50 例作为对照组。

1.2 仪器与试剂 免疫印迹法 GAD-Ab 检测试剂盒由深圳伯乐特公司生产, 放射免疫法 GAD-Ab 试剂盒由德国 Medipan 公司生产, 放射免疫分析仪是 GC-2016 放射免疫计数器。

1.3 方法 每例研究对象均抽取静脉血 3 mL, 分离血清置于 2~8 °C 冰箱保存待检, 在同一工作日内, 用分别用免疫印迹法与放射免疫分析法进行检测。

1.4 统计学处理 采用 SPSS13.0 软件进行统计学处理, 率的比较采用 χ^2 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 种方法检测 GAD-Ab 的阳性率比较 对照组中, 免疫印迹法与放射免疫分析法检测 GAD-Ab 的阳性率都非常低, 二者之间的阳性率差异无统计学意义($P > 0.05$)。在 T2DM 组中, 免疫印迹法与放射免疫分析法检测 GAD-Ab 的阳性率差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 2 种方法检测 GAD-Ab 的灵敏度与特异度比较 放射免疫法和免疫印迹法检测 GAD-Ab 的灵敏度分别为 20%(10/50)、6%(3/50), 特异度分别为 98%(49/50)、100%(50/50), 2

- [8] Runyon BA. Ascitic fluid and serum C-reactive protein concentrations in patients with and without peritonitis[J]. Am J Clin Pathol, 1986, 86(6): 773-775.
- [9] 李锦, 闫娜, 王旭. 自发性细菌性腹膜炎的诊断及治疗进展[J]. 医学综述, 2008, 14(15): 2296-2299.
- [10] 陈铿, 肖光明, 张健珍, 等. 慢加急性乙型肝炎肝功能衰竭患者血浆降钙素原测定的临床意义[J]. 中国医药指南, 2012, 11(17): 427-428.

(收稿日期:2014-02-18)

种方法的灵敏度差异有统计学意义($P < 0.05$), 说明若用免疫印迹法检测 GAD-Ab, 有可能会造成假阴性的结果, 需提醒临床医生注意。但 2 种方法的特异度差异无统计学意义($P > 0.05$), 说明 2 种方法检测 GAD-Ab 的阴性符合率好。

表 1 2 种方法检测 GAD-Ab 的阳性率比较[n(%)]

组别	n	免疫印迹法	放射免疫法
对照组	50	0(0)	1(2)
T2DM 组	50	3(6)	10(20)

3 讨论

糖尿病是一组以慢性血葡萄糖水平增高为特征的代谢疾病群, 存在不同程度胰岛素 β 细胞分泌不足和外周组织对胰岛素的生物效应降低。目前, 糖尿病自身抗体的诊断项目有抗胰岛细胞抗体、抗胰岛素抗体、GAD-Ab, 其中 GAD-Ab 是 1 种针对胰岛 65×10^3 蛋白的特异抗体^[1]。谷氨酸脱羧酶(GAD)是抑制性神经递质氨基丁酸(GABA)的酶, 存在于人和动物的脑、胰岛等组织。现在发现 GAD 有 2 种异构形式, 分别为相对分子质量为 65×10^3 的 GAD65 和相对分子质量为 67×10^3 的 GAD67。人胰岛组织中主要表达 GAD65, 而 GAD67 浓度甚微, 一般方法不易测出。糖尿病患者血清中的 GAD-Ab 绝大多数为抗 GAD65 抗体, 只识别 GAD65, 但抗 GAD67 抗体也能与 GAD65 结合。所以将 GAD65 作为抗原, 可以检测出几乎所有的 GAD-Ab^[2]。由于 GAD-Ab 出现较早, 并且持续时间长, 阳性率高, 所以 GAD-Ab 诊断糖尿病的价值优于抗胰岛细胞抗体, GAD-Ab 是迄今被公认的诊断成人糖尿病的最敏感的免疫学指标^[3]。

免疫印迹法是一种将高分辨率凝胶电泳和免疫化学分析技术相结合的杂交技术, 只能进行定性检测。不同研究之间采用免疫印迹法所得的 GAD-Ab 结果差异较大。有研究报道, 免疫印迹法检测 T1DM 患者血清中 GAD-Ab 的阳性率为

77.3%^[4]。也有文献报道该法检测 GAD-Ab 的阳性率高达 67.4%^[5]。本研究中,免疫印迹法检测 GAD-Ab 的阳性率结果则相对偏低,只有 6%,与文献报道的结果相差较大,考虑是由于不同研究之间样本数量差异造成的。

Burbelo 等^[6]采用放射免疫法对 49 例 T1DM 患者检测 GAD-Ab,结果阳性率为 77.6%。本研究中,放射免疫分析法检测 GAD-Ab 的阳性率为 20%,与文献^[6]报道的结果相差较大,可能与本研究检测的是 T2DM 患者有关。由于放射免疫分析法能对 GAD-Ab 进行定量分析,所以其结果可用于临床的疗效判断。目前临幊上用于检测 GAD-Ab 的方法学有很多,包括 ELISA 法、免疫印迹法、放射免疫法、免疫层析法等,不同的方法学之间,结果差异较大,临幊医生在看报告单时,应了解其方法学差异性,正确解读报告单,并结合患者临幊表现及其他检查项目综合分析,才能做出正确的判断。

参考文献

- [1] Petersen JS, Dyrberg T, Karlsen AE, et al. Glutamic acid decarboxylase autoantibodies in type 1 diabetes mellitus. *Diabetologia*, 2000, 43(11): 1291-1296.
- 经验交流 •

boxylase (GAD65) autoantibodies in prediction of B-cell function and remission in recent-onset IDDM after cyclosporin treatment [J]. *Diabetes*, 1994, 43(11): 1291-1296.

- [2] 郑虹, 苏本利. 免疫印迹法测定 GADA 在糖尿病分型诊断中的应用 [J]. 临床和实验医学杂志, 2011, 10(6): 408-409.
- [3] 冯真贵, 杨士军, 方小正. 胰岛细胞自身抗体, 抗谷氨酸脱羧酶抗体在初诊 2 型糖尿病中的测定与意义 [J]. 标记免疫分析与临幊, 2000, 7(1): 68-69.
- [4] 黄川英. 免疫印迹法在检测胰岛 B 细胞自身抗体中的应用 [J]. 华夏医学, 2007, 20(4): 805-806.
- [5] 陆红, 周薇. 免疫印迹和酶联免疫吸附法检测糖尿病自身抗体的结果比较 [J]. 实用医技杂志, 2007, 14(18): 2377-2378.
- [6] Burbelo PD, Hirai H, Issa AT, et al. Comparison of radioimmuno-precipitation with luciferase immunoprecipitation for autoantibodies to GAD65 and IA-2 β [J]. *Diabetes care*, 2010, 33(4): 754-756.

(收稿日期: 2014-03-11)

联合应用细胞化学染色诊断急性混合型白血病临床研究

李清元

(吉林市中心医院检验科, 吉林吉林 132011)

摘要:目的 应用细胞化学染色诊断急性混合型白血病(AHL)。方法 6 种细胞化学染色方法。结果 AHL 过氧化物酶(POX)染色和苏丹黑 B(SBB)染色可表现阳性, 但阳性率均较低。糖原(PAS)染色可呈粗颗粒、珠状和块状或部分细胞呈细颗粒, 部分粗颗粒、小珠。双克隆型髓系粒细胞和单核细胞的鉴别主要观察 POX 阳性物分布及单核反应较强的 α -丁酸萘酚酯酶(α -NBE)染色和酸性磷酸酶(ACP)染色。结论 联合应用细胞化学染色方法, 应用髓系标志物检测, 可以提高 AHL 的诊断率。

关键词:急性混合型白血病; 细胞化学染色; 诊断

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2014.22.060

文献标识码:B

文章编号: 1673-4130(2014)22-3133-03

急性混合型白血病(AHL)是急性白血病中髓细胞和淋巴细胞系共同累及的一组疾病, 占急性白血病的 1.2%~1.5%。根据细胞来源与表达不同可分为: 双表型、双克隆型和双系列型^[1-2]。单纯形态学检查可以部分诊断后 2 种类型, 但对双表型根本无法确定, 应用细胞化学染色方法, 同时应用髓系标志物检测, 可以提高 AHL 的诊断率。本研究对 2012~2014 年在本院住院并确诊的 35 例 AHL 患者的细胞化学染色结果进行了分析, 报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 35 例 AHL 患者均为本院住院的初诊患者, 按积分法经形态学、白血病免疫分型、骨髓电镜分析和分子生物学检查而确诊, 其中双表型 9 例, 双克隆型 26 例。双克隆型 AHL 中包括粒细胞/淋巴细胞混合型 18 例, 单核细胞/淋巴细胞混合型 8 例。本组病例除具有一般急性白血病的表现外, 其较为突出的临床特点为外周血白细胞计数升高, 循环原始细胞计数升高, 髓外浸润多(包括肝、脾、淋巴结、皮肤、纵隔及浆膜腔等), 易发生脑膜白血病。由于 AHL 起病早, 来势凶险, 广泛浸润, 高肿瘤负荷导致其治疗困难, 预后不良。

1.2 方法^[3]

1.2.1 过氧化物酶(POX)染色(联苯胺法) 于新鲜涂片滴加复方联苯胺染液 3~8 滴, 使之盖满涂片 1~2 min 后加入等量过氧化氢溶液, 5 min 后用水冲洗, 用瑞氏染液复染后进行观察。

1.2.2 苏丹黑 B(SBB)染色 新鲜干燥涂片用 10% 甲醛-生理盐溶液固定 10 min, 流水冲洗 2 min, 蒸馏水漂洗, 在室温彻底晾干。在 1% SBB 染液中孵育 1 h(密封染色缸盖)。涂片用 70% 乙醇浸泡 2~3 min, 去除过多的染液。流水冲洗 2 min, 蒸馏水洗 1 min。用 1% 伊红复染 5 min, 蒸馏水洗 2 min。用 2% 亚甲蓝复染 1 min, 蒸馏水洗 2 min, 干后镜检。

1.2.3 糖原(PAS)染色 干燥血片或骨髓片入 95% 乙醇固定 10 min, 自然风干水洗后, 2% 高碘酸引流扑片 15 min, 用滤纸吸干入雪夫试剂染缸 1 h, 37 °C 水浴核固红复染 20 min, 干后油镜观察。

1.2.4 酸性磷酸酶(ACP)染色 用相同方法制备 2 份基质液, 1 份加入适量的 L-酒石酸, 另外 1 份不加酒石酸。取 2 张相同标本的涂片, 分别用这 2 种不同的基质液做酸性磷酸酶染色。如果血细胞内的 ACP 耐酒石酸, 则 2 张均涂片呈阳性; 如不耐酒石酸, 则不加 L-酒石酸的涂片呈阳性, 加 L-酒石酸的涂片呈阴性反应。

1.2.5 α -丁酸萘酚酯酶(α -NBE)染色 血细胞内的 α -NBE 在 pH 碱性条件下, 水解基质液中的 α -丁酸萘酚并释放出 α -萘酚, 后者与基质液中的重氮盐偶联形成不溶性的有色沉淀, 定位于细胞质内酶所在的部位。本试验常用的重氮盐为固紫酱 GBC 盐, 形成的有色沉淀为红色。单核细胞系的阳性可被氟化钠抑制, 所以通常同时做氟化钠抑制试验。

1.2.6 酯酶(SE)染色 血细胞内的氯乙酸 AS-D 萘酚酯酶