

• 论 著 •

## 间接免疫荧光法与印迹法检测抗核抗体的相关性研究

左 克, 李生勇

(梧州市人民医院检验科, 广西梧州 543000)

**摘要:**目的 研究间接免疫荧光法(IIF)检测抗核抗体(ANA)与印迹法(LIA)检测 ANA 谱(ANAS)的诊断结果,并分析二者的一致性及相关性。方法 选取 2013 年 2 月至 2014 年 11 月在该院风湿科疑为自身免疫性疾病(AID)的住院及门诊患者为研究对象,采用 IIF 与 LIA 分别检测 ANA 与抗核抗体谱 ANAS,并对结果进行统计分析。结果 检出 ANA 阳性共 127 例,ANAS 阳性 84 例,最终确诊 AID 96 例,各种特异性抗体均有检出,优势性检验发现总体阳性率差异有统计学意义。结论 使用 IIF 检测 ANA 的阳性率高于 LIA,但对于疾病的诊断价值,则 LIA 检测 ANAS 优于 IIF 检测 ANA,临床上二者不可互相代替,应联合检测,防止漏检。

**关键词:**间接免疫荧光法; 印迹法; 抗核抗体; 相关性; 自身免疫性疾病

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2016.01.023

**文献标识码:**A

**文章编号:**1673-4130(2016)01-0053-03

## Correlation study on indirect immunofluorescence method and blot method for detecting antinuclear antibodies

Zuo Ke, Li Shengyong

(Department of Clinical Laboratory, Wuzhou Municipal People's Hospital, Wuzhou, Guangxi 543000, China)

**Abstract: Objective** To study the diagnostic results of the indirect immunofluorescence (IIF) and blot method for detecting ANA spectrum, and to analyze their consistency and correlation. **Methods** The inpatient and outpatient with suspected autoimmune diseases in the rheumatism department of our hospital from February 2013 to November 2014 were selected as the research subjects. The IIF method and blot method were adopted to detect antinuclear antibody(ANA) and ANA spectrum(ANAS). Then the detection results were analyzed. **Results** 127 cases of ANA positive were detected out, 84 cases of ANAS positive and 96 cases were finally diagnosed as autoimmune diseases (AID), all kinds of specific antibody were detected, the dominance detection found that there was difference among the total positive rate( $P < 0.05$ ), which showing the significance. **Conclusion** Using IIF for detecting ANA has higher positive rate than the blot method, but for the diagnostic value of disease, the blot method for detecting ANAS is superior to IIF for detecting ANA. But both two method cannot be replaced each other in clinic, their combined detection should be conducted for preventing missing detection.

**Key words:** indirect immunofluorescence method; blot method; antinuclear antibody; correlation; autoimmune diseases

抗核抗体(ANA)是以非特异性自身抗体的总称,分布于人体的各种体液中,如血清、组织液、尿液、胸腔积液等<sup>[1]</sup>,用于自身免疫性疾病(AID)的诊断、鉴别、疗效的评价、预后等环节有十余年,自身免疫性疾病是一种病理性的免疫应答,表现为自身组织器官等功能障碍<sup>[2]</sup>。对于 ANA 的检测,有酶联免疫分析法、免疫扩散、免疫印迹法(LIA)、悬浮微阵列及抗原芯片多种方法<sup>[3-4]</sup>,临床常用的主要有两种方法,即间接免疫荧光法(IIF)与印迹法(LIA)。IIF 检测 ANA,而 LIA 检测 ANA 谱(ANAS)。在临床应用这两种方法检测抗核抗体时,二者的结果有时并不完全一致<sup>[5]</sup>。因此,为研究 IIF 与 LIA 检测抗核抗体的诊断效果,探讨两种方法检测抗核抗体的一致性及相关性,以期为临床 AID 的诊疗提供借鉴,现将研究内容报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取在 2013 年 2 月到 2014 年 11 月本院风湿科住院及门诊疑诊为 AID 的患者 1 346 例为研究对象,采用 IIF 与 LIA 检测抗核抗体,其中检出 ANA 阳性有 127 例,最终确诊为 AID 有 96 例,如 SLE、RA、干燥综合征 SS、PSS、PM/DM 等。

**1.2 诊断方法** IIF 检测 ANA 试剂为 ANA HEP-2 IgG IFA 诊断试剂盒由美国 SCIMEDX CORPORATION 公司生产,血清稀释滴度为 1:40, LIA 检测抗核抗体谱试剂盒由苏州浩欧博生物医药有限公司生产,于硝化纤维素膜包被的特异性抗体包括:dsDNA 抗体、核小体抗体、SmDl 抗体、核糖体 P 蛋白抗体、组蛋白抗体、U1snRNP 抗体、SSA/60KD 抗体、SSA/52KD 抗体、SSB 抗体、Scl-70 抗体、抗着丝点抗体、Jo-1 抗体。

**1.3 设备** 荧光显微镜(日本 Olympus BH2),华诺公司生产的 ANA 谱蛋白检测仪。

**1.4 统计学处理** SPSS17.0 统计数据,计量资料用  $\bar{x} \pm s$  的形式表示,计量资料用  $t$  检验,计数资料用  $\chi^2$  检验、秩和检验方法进行分析, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 两种方法检测 ANA 的结果比较** 通过检测 1 346 例疑 AID 患者 ANA 阳性有 127 例,阳性率 9.43%,其中男 33 例,女 94 例,男女比例为 1.00:2.85,男女比例差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),ANA 谱检测有 84 例阳性,阳性率 6.24%,其中男 28 例,女 56 例,男女比例为 1:2,男女比例亦有显著性差异,两种方法进行关联性分析,提示方法具有一致性,进行优势

性检验发现总体阳性率有差异,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),说明采用 IIF 检测 ANA 的阳性率高于 LIA 检测 ANA 谱的阳性率,见表 1。

**2.2 特异性 ANA 抗体检出分布情况** 127 例 ANA 阳性患者最终确诊为 AID 有 96 例,其中系统性红斑狼疮(SLE)51 例,类风湿关节炎(RA)21 例,干燥综合征(SS)13 例,进行性系统性硬皮病(PSS)3 例,混合性结缔组织病(MCTD)6 例,多肌炎、皮肌炎(PM/DM)2 例。ANA 谱中各种特异性抗体有不同

程度的检出,检测出特异性 ANA 阳性率分布见表 2。

**表 1 两种方法检测 ANA 的结果分析**

方法	n	阳性数(n)		计(n)	阳性率(%)
		男	女		
IIF	1 346	33	94	127	9.43
LIA	1 346	28	56	84	6.24

**表 2 96 例自身免疫性疾病患者血清 ANA 及 ANAS 检测结果[n(%)]**

检测项目	SLE(n=51)	RA(n=21)	SS(n=13)	PSS(n=3)	MCTD(n=6)	PM/DM(n=2)
ANA	49(96.1)	17(80.9)	11(84.6)	3(100)	5(83.3)	2(100)
dsDNA	17(33.3)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
Sm	20(39.2)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
nRNP	15(29.4)	0(0.0)	2(15.4)	0(0.0)	6(100)	0(0.0)
SSA-52	25(49.0)	11(55.0)	12(92.3)	0(0.0)	2(33.3)	1(50.0)
SSA-60	16(31.4)	8(38.1)	11(84.6)	0(0.0)	3(50.0)	1(50.0)
SSB	11(21.6)	5(23.8)	7(53.9)	0(0.0)	1(16.7)	0(0.0)
Scl-70	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	2(66.7)	0(0.0)	0(0.0)
Jo-1	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	2(100)
CENPB	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	2(66.7)	0(0.0)	0(0.0)
核小体	21(41.2)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
组蛋白	28(54.9)	7(33.3)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
核糖体 P 蛋白	9(17.6)	1(4.8)	1(7.7)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
AMAM2	2(3.9)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)

**3 讨 论**

IIF 检测 ANA 作为 AID 诊断的标准方法,具有检测操作方便,且能针对细胞核、细胞浆、细胞骨架、细胞周期等各种自身抗体,并具有检测范围广等优点<sup>[6-7]</sup>。美国风湿学会(ACR)在 2009 年立场声明中建议将 IIF 作为 ANA 检测的金标准。本研究中 127 例 ANA 阳性患者最终确诊为 AID 有 96 例,占 ANA 阳性患者中的 75.6%,其余 31 例为假阳性或多数老年人或少数健康者,目前国内对 ANA 的稀释度与判断还没有统一的标准,存在主观因素,对于阳性结果的滴度界限,仍存较大分歧,国内缺乏统一的滴度稀释系统和标准化报告程序<sup>[8]</sup>,本次试验采用的血清稀释滴度为 1:40,故检出的阳性率相对会高些,51 例 SLE 患者中 ANA 阳性率达 96.1%,21 例 RA 患者 ANA 阳性率也达 80.9%,其他 AID 中也有相当高的阳性率,因此可认为 ANA 与 AID 有密切的联系,在 AID 的筛查中有重要的意义。

但是,同时也发现,ANA 的筛查对 AID 的确诊没有特异性,而且大多数 AID 患者的血清用 IIF 检测可见多种荧光染色模型的重叠或仅仅表现为很弱的阳性,可能误导临床诊断。或者有些时候由于检测时干扰现象或人体正常免疫反应等会出现假阳性,基质中部分靶抗原分布不均、含量低等原因也会出现假阴性结果<sup>[9]</sup>。LIA 作为一种 ANA 谱的特异性抗体确认试验,在反应膜条上平行包被多种高度纯化、重组抗原物质,具

有操作简单快速、易自动化,结果判读方便,一次可检测 AID 相关的多种特异性自身抗体,具有高灵敏度和特异性等优点<sup>[10]</sup>。96 例确诊的自身免疫性疾病患者,其中 SLE 51 例,RA 21 例,SS 13 例,PSS 3 例,MCTD 6 例,PM/DM 2 例。ANA 谱中各种特异性抗体有不同程度的检出,对疾病的确诊有着决定性的意义。如 51 例 SLE 患者中血清检测出 dsDNA (33.3%)、抗 Sm 抗体(39.2%)、核小体(41.2%)和组蛋白(54.9%)等特异性抗体的出现,其中抗 Sm 抗体被认为是 SLE 的标记性抗体,对 SLE 的诊断有重要的意义,RA 中组蛋白也有较高的阳性率(33.3%),抗 nRNP 抗体是诊断 MCTD 的重要血清学依据,6 例 MCTD 患者中抗 nRNP 抗体全部阳性(100%),但在其他自身免疫性疾病中也有一定的检出率,抗 SSA-52、抗 SSA-60、抗 SSB 是 SS 最常见的抗体,抗 SSA 敏感性高,抗 SSB 特异性高,两者的联合检测提高了 SS 的诊断率<sup>[11]</sup>。抗 Scl-70 与着丝点抗体(CENPB)是 PSS 特异性抗体,3 例 PSS 患者阳性率各为 66.7%,抗 Jo-1 与 PM/DM 有关,多合并肺间质纤维化,2 例 PM/DM 均阳性。因此 ANA 谱特异性抗体的检测在 AID 的诊断与鉴别上有重要的价值。

通过研究,对两种方法检查 ANA 进行关联性分析,两种检查方法具有一致性,进行优势性检验发现总体阳性率有差异,差异有统计学意义,采用 IIF 检测 ANA 的阳性率高于 LIA 检测 ANA 谱的阳性率。对于疾病判断价值比较,(下转第 57 页)

准确度来看,两者均在  $1/2CLIA^{88TEa}$  之内。而两者结合起来,即应用 Westgard 方法性能决定图,发现 22 个常规项目所表现出来评价性能不一样,可以看出 Mg、DB、ALP、TG 4 个项目落在分析性能不符合区,CK、AMY、P、ALT、GGT、BUN 落在分析性能临界区,TB、AST、ALB、UA、TC 落在分析性能良好区,APOA、TBA、Ca、LDH、APOB、TP、CREA 落在分析性能为优秀区。利用 Westgard 方法性能决定图能够直观、简单、准确地看出各个项目的性能评价等级,而且可以相互比较性能使用特征。不同等级的性能项目有不同的解决方法,方法性能判定不同水平的结果解释有<sup>[8]</sup>:(1)若性能判定结果落在分析性能不符合区,表明该测定方法不能满足质量要求,不能用于常规操作。(2)若性能判定结果落在分析性能临界区,表明该方法性能尽管能满足临床要求,但很可能失控;要有全面的质量控制策略,需培训操作人员,加强室内质控,监测患者榆测结果,并持续改进检测系统的性能。(3)若性能判定结果落在分析性能良好区,表明该测定方法能满足质量要求;在日常工作中,只要运用多规则质控方案,测定方法就能很好地运行管理。(4)若性能判定结果落在分析性能为优秀区,表明该测定方法优良,在日常工作中,运用单规则的质控方法就能很好地运行管理。本次性能验证发现 Mg、DB、ALP、TG 4 个项目分析性能不符合要求,可能是试剂放置过久,室内温度过高影响试剂质量的原因,重新换新批号试剂,定标之后可以解决以上问题。

综上所述,本文应用 Westgard 方法性能决定图来评价非配套试剂的使用性能,发现其评估临床可接受性和生化室内质量管理方面具有实用性,其简单、直观和准确的优势能够为实

验室提供可靠的处理方法。

## 参考文献

- [1] 周锡铨,邸玉玮,戴耀宗,等. 临床医学实验室非配套试剂使用性能验证[J]. 实用医学检验杂志,2012,28(22):2824-2826.
- [2] 李萍. 临床实验室管理学[M]. 北京:高等教育出版社,2010:36-38.
- [3] 申子瑜,王治国. 临床实验室室内质量评价要求[J]. 医学检验与临床,2007,30(2):215-218.
- [4] 伍众文,车玉传,黄金印,等. 标准化  $6\sigma$  方法性能决定图制作及在临床生化检验质量管理中的应用[J]. 检验医学与临床,2010,7(5):387-389.
- [5] 张秀明,郑松,柏孙蕾,等. 应用 Westgard 方法评价决定图判断生化检测系统性能的可接受性[J]. 中华检验医学杂志,2007,30(1):86-89.
- [6] 傅光祥,郭富饶,隆维东,等. 应用 Westgard 方法评价决定图判断测定方法的可接受性[J]. 国际医学检验杂志,2013,34(16):2152-2155.
- [7] 程明刚,郝艳华,程静,等. Westgard 方法决定图在生化检测系统性能评价中的应用研究[J]. 医疗卫生装备,2012,33(3):109-112.
- [8] 郭永灿,邱厚兵,张帮林,等. Westgard 方法决定图在评价 Roche 生化检测系统分析性能中的临床应用[J]. 国际医学检验杂志,2010,31(8):899-901.

(收稿日期:2015-08-25)

(上接第 54 页)

ANA 谱优于 ANA。IIF 法检测 ANA 是提高阳性检测率的重要方法,但缺乏特异性,LIA 法检测 ANA 谱则是确诊 AID 的重要指标。由于 IIF 检测采用的 Hept-2 细胞,抗原底物有分布不均的情况,对于浓度过低以及固定方法不同、特定抗原的破坏等影响因素,会出现 ANA 谱阳性而 ANA 阴性的结果,又由于 ANA 的稀释滴度过低而阳性率相对过高,因印迹膜条包被的抗原物质种类有限可能导致部分特异性抗体的漏检,出现 ANA 阳性而 ANAS 阴性的结果,由此在实际工作中出现上述两者结果不一致的现象,需要检验人员与临床医生的紧密联系与配合,结合患者的具体症状,综合各项检验指标,作出正确的判断。两种方法不能互为替代,应联合应用,提高疾病的诊断率,为疾病的诊断与鉴别提供更有利的依据。

## 参考文献

- [1] 宁小晓,王蕾. 间接免疫荧光及免疫印迹法检测抗核抗体的回顾性分析[J]. 现代免疫学,2012,28(2):159-163.
- [2] 张铁汉,赵永新,郑辉,王伟娟. 免疫印迹法与间接免疫荧光法检测抗核抗体对照分析[J]. 中国热带医学,2008,30(4):568-570.
- [3] 马作新,廉娜,郑立. 3 种检测方法在诊断自身免疫性疾病中的价值[J]. 国际检验医学杂志,2010,31(6):540-541,543.

- [4] 张道强,隋秀梅,林荣海,等. 抗核抗体间接免疫荧光法检测结果与抗核抗体谱免疫印迹法检测结果对比分析[J]. 国际检验医学杂志,2010,31(11):1212-1214.
- [5] 何蕊,徐兰峰,宋秀军,等. 抗核抗体谱检测的临床诊断意义[J]. 细胞与分子免疫学杂志,2011,27(9):1017-1018.
- [6] 夏勇,李齐光,唐希才,等. 间接免疫荧光法与酶联免疫吸附试验检测抗核抗体对比分析[J]. 实用医学杂志,2011,27(13):2449-2451.
- [7] 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]. 中国社区医师:医学专业,2013,32(2):217-218.
- [8] 管延武,郑培华. 检查抗核抗体与可提取的核抗原谱在诊断自身免疫性疾病中的作用[J]. 中国医药指南,2012,10(1):80-81.
- [9] 周厚清,梁静文,董敏. ANA 谱和 ds-DNA 检测在系统性红斑狼疮诊断中的临床意义[J]. 中国卫生检验杂志,2013,33(12):1228-1230.
- [10] 秦雪,陶瑕,陈志坚,等. 间接免疫荧光法与 ELISA 检测抗核抗体、抗双链 DNA 抗体的比对分析[J]. 南方医科大学学报,2009,30(3):472-475.
- [11] 冀春梅,王振明,马居凤. 抗核抗体谱检测在自身免疫性疾病中的意义[J]. 实用医技杂志,2008,15(5):583-584.

(收稿日期:2015-06-28)