

· 论 著 ·

2 513 例抗核抗体与抗核抗体谱检测结果对比分析

蒲泽晏, 胥国强, 李祥坤, 李 风, 黄雪梅
(遂宁市中心医院检验科, 四川遂宁 629000)

摘要:目的 分析本实验室抗核抗体(ANA)与抗核抗体谱(ANAs)15项联合检测的结果,并探讨两者之间的关系。方法 分别用间接免疫荧光法(IIF)和免疫印迹法(IBT)检测患者 ANA 和 ANAs,判断其 ANA 滴度、荧光模型和 ANAs 结果,并对 ANA 和 ANAs 检测结果进行对比分析。结果 471 例 ANA 阳性患者标本中,颗粒型 161 例,均质型 110 例,胞质型 96 例、核仁型 37 例、着丝点型 28 例,其他型合计 39 例;滴度为 1:100 者 196 例,占 41.61%(196/471),其中 ANAs 阳性 53 例,占 27.04%(53/196);滴度为 1:320 者 123 例,占 26.11%(123/471),其中 ANAs 阳性 67 例,占 54.47%(67/123);滴度为 1:1 000 者 152 例,占 32.27%(152/471),其中 ANAs 阳性 132 例,占 86.84%(132/152);2 042 例 ANA 阴性标本中 45 例 ANAs 检测阳性,阳性率为 2.2%(45/2042);高滴度 ANA 患者血清中 ANAs 的阳性率高于低滴度($\chi^2=123.132, P<0.05$)。结论 不同滴度的 ANA 与 ANAs 之间有一定的关系,如果以 ANA 进行过筛,阳性再做 ANAs 会漏检部分患者,建议 IIF 和 IBT 联合应用,防止风湿病的漏诊。

关键词:抗核抗体; 抗核抗体谱; 间接免疫荧光法; 免疫印迹法

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.10.018

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)10-1346-02

Comparative analysis of antinuclear antibody and antinuclear antibody spectrum for 2 513 samples

Pu Zeyan, Xu Guoqiang, Li Xiangkun, Li Feng, Huang Xuemei

(Department of Clinical Laboratory, Suining Central Hospital, Suining, Sichuan 629000, China)

Abstract: Objective To analyze the results of combined detection of the 15 indexes of antinuclear antibodies (ANA) and antinuclear antibody spectrum (ANAs) in our laboratory and to investigate the correlation between them. **Methods** The ANA fluorescence pattern and the ANA titer were detected by the indirect immunofluorescence(IIF) and the ANAs was detected by immunoblotting(IBT). The results of the ANA and ANAs were analyzed. **Results** Among the 471 samples of ANA positive, 161 cases were speckled pattern, 110 cases were homogeneous pattern, 96 cases were cytoplasmic pattern, 37 cases were nucleolar pattern, 28 cases were centromere pattern, and 39 cases were the other pattern. The positive rate of ANA titer of 1:100 was 41.61%(196/471) and positive rate of ANAs was 27.04%(53/196). The positive rate of ANA titer of 1:320 was 26.11%(123/471) and positive rate of ANAs was 54.47%(67/123). The positive rate of ANA titer of 1:1 000 was 32.27%(152/471) and positive rate of ANAs was 86.84%(132/152). 45 cases were detected with the ANAs positive of in 2 042 ANA negative samples, the positive rate were 2.2%(45/2 042). The positive rate of ANAs in high ANA titer samples was higher than that in low ANA titer samples($\chi^2=123.132, P<0.05$). **Conclusion** The ANA titer and ANAs has certain relationship. If ANA is regarded as positive to test ANAs, a small proportion of patients will miss detection. Thus, the combination detection of IIF and IBT is suggested to avoid the misdiagnosis of rheumatic.

Key words: antinuclear antibody; antinuclear antibodies spectrum; indirect immunofluorescence; immunoblotting

抗核抗体(ANA)是抗细胞核内成分的抗体,因为细胞核包含多种成分,所以有抗核内多种物质的抗体谱即抗核抗体谱(ANAs),ANA属于自身抗体。自身抗体的检测对风湿病的诊断和鉴别诊断具有重要价值,尤其是结缔组织病(CTD)的早期诊断至为重要^[1]。目前国内外检测 ANA 的方法主要有间接免疫荧光法(IIF)和酶联免疫吸附法(ELISA),广泛用于风湿病的筛查^[2-4]。国内外很多实验室为了节省检测成本,只将 ANA 阳性的标本才做特异性 ANAs 检测。还有一些实验室仅用自动化仪器检测特异性的 ANAs、不作 ANA 的 IIF 或免疫印迹法(IBT)筛查。本文通过对 2 513 例 ANA 与 15 种抗体的对比分析,探讨 ANA 与 ANAs 的关系,明确 ANA 与 ANAs 检测的意义及能否相互代替。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2014 年 10 月 1 日至 2015 年 1 月 22 日

本院门诊及住院患者 2 513 例,其中男 849 例,年龄 1~94 岁,平均 48.94 岁;女 1 664 例,年龄 10 个月至 89 岁,平均 45.80 岁。

1.2 标本采集 抽取清晨空腹静脉血 3 mL,静置 30 min 后,离心分离血清(3 000 r/min 离心 10 min)。当日不能及时检测的标本置于-20℃冰箱保存。

1.3 检测方法 ANA 采用 IIF 法检测,试剂盒为欧蒙医学实验诊断有限公司生产,每次试验均设阴、阳对照,操作严格按照试剂盒提供的说明书进行,荧光显微镜观察结果,细胞或组织内出现特异性荧光判为阳性。测定 3 个滴度,1:100、1:320、1:1 000;抗体滴度大于等于 1:100 为阳性。ANAs 采用 IBT 法检测,试剂盒为欧蒙医学实验诊断股份公司生产,可检测抗-nRNP、Sm、SS-A、Ro-52、SS-B、Scl-70、PM-Scl、Jo-1、CENP B、PCNA、dsDNA、核小体、组蛋白、核糖体 P 蛋白和 AMA M2 等

15 种不同抗原 IgG 类抗体。严格按照试剂盒说明书进行操作及判定结果。

1.4 统计学处理 采用 SPSS18.0 统计软件进行统计学分析,率的比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ANA 阳性标本的核型分析 2 513 份血样中 ANA 阳性共 471 例,阳性率为 18.74%(471/2 513)。荧光模式颗粒型占 34.18%(161/471),均质型占 23.35%(110/471),胞质型占 20.38%(96/471),核仁型占 7.86%(37/471),着丝点型 5.94%(28/471),其他核型占 8.28%(39/471),具有两种或两种以上核型的占 6.16%(29/471)。见表 1。

表 1 471 例 ANA 阳性标本中不同荧光核型的比例

荧光核型	例数(n)	比例(%)
颗粒型	161	34.18
均质型	110	23.35
胞质型	96	20.38
核仁型	37	7.86
着丝点型	28	5.94
其他核型	39	8.28
两种或两种以上核型	29	6.16
合计	471	100.00

2.2 不同荧光滴度 ANA 标本中 ANAs 的阳性率比较 471 例 ANA 阳性,滴度为 1 : 100 者占 41.61%(196/471),其中 ANAs 阳性 53 例,占 27.04%;滴度为 1 : 320 者占 26.11%(123/471),其中 ANAs 阳性 67 例,占 54.47%;滴度为 1 : 1 000 者占 32.27%(152/471),其中 ANAs 阳性 132 例,占 86.84%(132/152)。高滴度 ANA 患者血清中 ANAs 的阳性率高于低滴度,且差异具有统计学意义($\chi^2 = 123.132, P < 0.05$)。

2.3 2 513 例标本中 ANAs 阳性结果分析 2 513 份血样 ANAs 检测阳性 297 例,阳性率为 11.82%(297/2 513)。2 042 例 ANA 阴性标本中 45 例 ANAs 检测阳性,阳性率为 2.20%,其中 44 例为单项阳性,1 例为 2 项阳性。

3 讨论

ANA 是 CTD 重要的血清学标志,IIF 是检测 ANA 的金标准^[5],是筛查自身抗体的主要方法^[6-7],是目前应用最广泛的自身抗体筛查试验。本组资料 IIF 法检测的 2 513 份血样中 ANA 阳性 471 例,阳性率为 18.74%(471/2 513),低于郭大文等^[6]报道的 52.00%,但高于高仕萍等^[4]报道的 6.25%,可能与受检查人群、地区、医生对风湿病的认知度有关。ANA 荧光模式本组以颗粒型占 34.18%(161/471),均质型占 23.35%(110/471),胞质型占 20.38%(96/471),这 3 型占 77.91%,与郭大文等^[6]和陈燧琼等^[8]报道存在一定的差异,郭大文等^[6]报道颗粒型占 43.48%,陈燧琼等^[8]报道颗粒型占 62.94%,ANA 荧光模式的差异可能与 ANA 成分复杂、检查对象差异、人为分型误差等因素有关。本研究 471 例阳性中 ANA 滴度与 ANAs 的阳性率有一定的关系,本组 ANAs/ANA 的比值随 ANA 滴度的升高而增大,与郭大文等^[6]报道的“ANAs 的阳性率随 ANA 滴度增大而升高”一致。

本组资料显示 ANA 阳性率高于 ANAs,与相关报道一致^[2-4,8]。ANA 阴性标本中 ANAs 检测阳性率为 2.20%,低于胡朝军等^[3]报道的 10.17%,高于郭大文等^[6]报道的 0.50%。高仕萍等^[4]报道 2 207 份血样中 ANAs 阳性、ANA 阴性者仅 3 例。赖永才等^[9]报道 132 例抗 ENA 抗体阳性病例 ANA 的阳性率为 93.90%,有 6.10%的 ANA 阴性患者抗 ENA 抗体阳性。从文献上看各家报道结果差异较大,分析原因可能与选取病例的数量和诊断的可靠程度、医院的专科特色、医生和检验人员的技术水平、使用仪器试剂的厂家等的差异有关。由于 ANA 检测的 IIF 方法是手工实验,检测过程中影响因素较多,检测结果最显著的问题是重复性差^[10],这可能也是各实验室报道差异较大的原因,因此,人员教育、素质提高和质量控制是保障质量工作的核心^[11-12]。

笔者认为 ANA 与 ANAs 的检测各家报道结果差异较大,目前尚缺乏多中心大样本的研究,没有形成“专家共识”,期望今后有“专家共识”或其他相关规范性文件或操作出台。根据作者对 2 513 份血样的对比分析认为:由于 ANA 与 ANAs 敏感性、特异性有差异,如果 ANA 阴性标本不做 ANAs 会导致部分患者漏诊,两者联合检测在 CTD 诊断中具有一定互补性,可减少漏诊或误诊。

参考文献

- [1] 陆再英,钟南山.内科学[M].7版.北京:人民卫生出版社,2008.
- [2] 申静,黄博. ANA 检测在自身免疫性疾病中的应用评价[J].山西中医学院学报,2013,14(6):51-52.
- [3] 胡朝军,李俊,张道强,等.间接免疫荧光法筛查抗核抗体与特异性抗体检测的相互关系[J].中华临床免疫和变态反应杂志,2011,5(3):179-185.
- [4] 高仕萍,杨文勇,资云菊,等.抗核抗体和抗核抗体谱联合检测在自身免疫性疾病诊断中的临床应用价值[J].检验医学与临床,2014,11(2):222-223.
- [5] Peterson LK, Wells D, Shaw L, et al. Novel method for quantitative ANA measurement using near-infrared imaging[J]. J Immunol Methods, 2009, 349(1/2):1-8.
- [6] 郭大文,张英辉,单娜,等.抗核抗体核型与条带免疫抗体谱相关性分析[J].中华实用诊断与治疗杂志,2012,26(6):560-562.
- [7] Hoffman IE, Peene I, Veys EM, et al. Detection of specific antinuclear reactivities in patients with negative anti-nuclear antibody immunofluorescence screening tests[J]. Clin Chem, 2002, 48(12): 2171-2176.
- [8] 陈燧琼,赵迪,邓晓刚,等.抗核抗体核型与抗核抗体谱检测结果对比分析[J].国际检验医学杂志,2014,35(14):1859-1860.
- [9] 赖永才,毛炜.自身免疫性疾病中抗核抗体与抗 ENA 抗体的相关性分析[J].检验医学与临床,2011,8(7):815-816.
- [10] 王兰兰.自身抗体检测的应用与质量保障原则[J].中华检验医学杂志,2005,28(10):17-20.
- [11] 陈良琼,吉飞跃,崔益祥.自身抗体临界值质控血清的制备及评价[J].国际检验医学杂志,2014,35(10):1326-1328.
- [12] 万本愿,李胜远,姜青龙.自身抗体检测的临床应用与质量控制[J].实验与检验医学,2013,31(1):52-55.