

免疫印迹法联合间接免疫荧光法在自身免疫性肝病诊断中的应用价值

刘蕊

(湖北省武当山旅游经济特区医院 湖北十堰 442714)

【摘要】目的: 探讨免疫印迹法联合间接免疫荧光法检测自身免疫性肝病相关抗体的临床价值, 分析其在疾病诊断中的灵敏度、特异度及应用优势。方法: 选取2023年1月—2024年12月于我院就诊的自身免疫性肝病疑似患者92例作为观察组, 同期选取健康体检者80例作为对照组。采集所有研究对象空腹静脉血, 分离血清后, 采用间接免疫荧光法进行抗体初筛定性检测, 采用免疫印迹法进行6项特异性IgG抗体精准定性检测, 对比两组抗体阳性率, 分析两种方法联合检测的诊断一致性与诊断效能。结果: 观察组AMA-M2、Sp100、gp210、LC1、SLA抗体阳性率分别为47.83%、21.74%、18.48%、14.13%、10.87%, 均显著高于对照组的1.25%、0.00%、1.25%、0.00%、0.00%, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 以临床综合诊断为金标准, 联合检测的诊断灵敏度为92.39%、特异度为96.25%、准确率为94.17%, 两种方法检测一致性良好($Kappa=0.876$, $P < 0.05$)。结论: 免疫印迹法联合间接免疫荧光法检测自身免疫性肝病相关抗体, 特异性强、诊断效能高, 可实现初筛与精准定性互补, 能为自身免疫性肝病的早期诊断、分型评估提供可靠的实验室依据, 具有较高的临床推广价值。

【关键词】 自身免疫性肝病; 免疫印迹法; 间接免疫荧光法; 自身抗体; 诊断效能

The Application Value of Immunoblotting Combined with Indirect Immunofluorescence in the Diagnosis of Autoimmune Liver Diseases

Liu Rui

(Wudang Mountain Tourism Economic Zone Hospital, Shiyan, Hubei 442714)

[Abstract] Objective: To explore the clinical value of detecting autoantibodies related to autoimmune liver diseases using immunoblotting combined with indirect immunofluorescence, analyzing its sensitivity, specificity, and application advantages in disease diagnosis. Methods: A total of 92 suspected autoimmune liver disease patients treated at our hospital from January 2023 to December 2024 were selected as the observation group, while 80 healthy physical examination participants were chosen as the control group during the same period. Fasting venous blood was collected from all subjects, and serum was isolated. Indirect immunofluorescence was used for initial qualitative screening of antibodies, while immunoblotting was employed for precise qualitative detection of six specific IgG antibodies. The antibody positivity rates between the two groups were compared, and the diagnostic consistency and efficacy of the combined testing methods were analyzed. Results: The observation group exhibited AMA-M2, Sp100, gp210, LC1, and SLA antibody positivity rates of 47.83%, 21.74%, 18.48%, 14.13%, and 10.87%, respectively, all significantly higher than those in the control group (1.25%, 0.00%, 1.25%, 0.00%, 0.00%), with statistically significant differences ($P < 0.05$). Using comprehensive clinical diagnosis as the gold standard, the combined testing demonstrated diagnostic sensitivity of 92.39%, specificity of 96.25%, and accuracy of 94.17%, with excellent agreement between the two methods ($Kappa = 0.876$, $P < 0.05$). Conclusion: The combination of immunoblotting and indirect immunofluorescence for detecting autoantibodies in autoimmune liver diseases offers high specificity and diagnostic efficacy, achieving complementary initial screening and precise qualitative detection. This approach provides reliable laboratory evidence for early diagnosis and subtype assessment of autoimmune liver diseases, demonstrating significant clinical application value.

[Key words] Autoimmune liver disease; Immunoblotting; Indirect immunofluorescence; Autoantibodies; diagnostic efficacy

自身免疫性肝病是一类由机体自身免疫功能紊乱介导的慢性进行性肝脏炎症性疾病, 主要包括自身免疫性肝炎、原发性胆汁性胆管炎、原发性硬化性胆管炎及重叠综合征, 该病起病隐匿、早期症状不典型, 病情进展可导致肝纤维化、肝硬化甚至肝衰竭, 早期精准诊断是干预治疗、改善患者预

后的核心环节^[1]。自身抗体检测是自身免疫性肝病诊断、分型、病情监测的重要实验室指标, 不同检测方法的灵敏度、特异度差异较大, 单一检测方法易出现漏诊、误诊, 难以满足临床精准诊断需求^[2]。

间接免疫荧光法是自身抗体检测的经典初筛方法, 可直

观观察荧光模式,完成快速定性筛查;免疫印迹法可同步实现多项特异性自身抗体的精准检测,特异性强、结果稳定性好,二者联合应用可形成检测互补。基于此,本研究选取我院收治的疑似患者与健康体检者为研究对象,采用免疫印迹法联合间接免疫荧光法检测相关自身抗体,分析其诊断价值,为临床检测方案优化提供参考^[3]。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2023年1月—2024年12月于我院就诊的自身免疫性肝病疑似患者92例作为观察组,同期选取健康体检者80例作为对照组。纳入标准:①观察组符合自身免疫性肝病相关临床诊断标准^[4];②年龄18~75岁;③临床资料完整;④受试者知情同意并签署知情同意书。排除标准:①合并病毒性肝炎、酒精性肝病、药物性肝损伤者;②合并严重心、肾、血液系统等其他脏器严重疾病者;③妊娠及哺乳期女性;④临床资料不全者。本研究经我院伦理委员会批准。

1.2 检测方法

采集所有研究对象空腹静脉血5 mL,置于无抗凝采血管中,室温静置30 min后,3000 r/min离心10 min,分离上层血清,置于-20℃冰箱保存待检。所有标本均采用免疫印迹法联合间接免疫荧光法进行自身免疫性肝病相关抗体检测,严格按照试剂盒说明书及实验室标准操作规程开展检测^[5]。间接免疫荧光法用于自身免疫性肝病相关抗体初筛定性检测;免疫印迹法用于抗AMA-M2、Sp100、LKMI、gp210、LC1、SLA共6项特异性IgG抗体的精准定性检测。

1.3 主要试剂与仪器

1. 试剂:自身免疫性肝病抗体谱检测试剂盒(免疫印迹法,型号:LIV-6,规格:24人份/盒,广州市康润生物科技有限公司);间接免疫荧光法检测试剂盒(欧蒙医学诊断技术有限公司)。

2. 仪器:全自动免疫印迹分析仪、全自动间接免疫荧光法分析仪、移液器(10 μL、1000 μL)、量筒(100 mL、1000 mL)、吸水纸、恒温水浴箱、低温冰箱(-20℃)等。

1.4 实验操作步骤

间接免疫荧光法采用全自动间接免疫荧光法分析仪完成样本稀释、孵育、洗涤、荧光二抗结合、封片及生物荧光显微镜下观察荧光模式,判定结果阴阳性^[6],全流程自动化检测。

免疫印迹法全程采用全自动免疫印迹分析仪完成自动化操作:①膜条封闭:将硝酸纤维素膜条置入仪器孵育槽,仪器自动加入缓冲液,室温封闭30 min^[7];②样本孵育:仪器自动加样、孵育60 min,使特异性抗体与抗原充分结合;③洗涤:仪器自动完成洗涤程序,去除未结合成分;④酶结合物孵育:仪器自动加入酶标二抗,孵育30 min;⑤显色:仪器自动加显色剂,室温避光显色10 min;⑥终止判读:仪器自动终止反应,自动判读结果^[8]。

1.5 结果判读标准

1. 间接免疫荧光法:以肝细胞、胆管上皮细胞等出现特异性荧光为阳性,无特异性荧光为阴性^[9];

2. 免疫印迹法:对照试剂盒判读模板,膜条对应AMA-M2、Sp100、LKMI、gp210、LC1、SLA抗原位置出现特异性蓝色显色条带判定为阳性,无显色条带判定为阴性;若条带显色模糊,结合间接免疫荧光法结果进行综合判定^[10]。

1.6 统计学方法

采用SPSS 26.0统计学软件进行数据分析,计数资料以[n(%)]表示,组间比较采用 χ^2 检验;以临床综合诊断结果为金标准,计算诊断灵敏度、特异度、准确率,采用Kappa检验分析两种方法检测一致性, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组自身免疫性肝病相关抗体阳性率比较

观察组AMA-M2、Sp100、gp210、LC1、SLA抗体阳性率均显著高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$);两组LKMI抗体阳性率均较低,组间差异无统计学意义($P > 0.05$),详见表1。

表1 两组自身免疫性肝病相关抗体阳性率比较[n(%)]、

抗体类型	观察组(n=92)	对照组(n=80)	χ^2 值	P值
AMA-M2	44(47.83)	1(1.25)	42.157	<0.001
Sp100	20(21.74)	0(0.00)	18.682	<0.001
LKMI	3(3.26)	0(0.00)	2.654	0.103
gp210	17(18.48)	1(1.25)	12.371	<0.001
LC1	13(14.13)	0(0.00)	12.115	<0.001
SLA	10(10.87)	0(0.00)	9.127	0.003

2.2 免疫印迹法与间接免疫荧光法检测一致性及诊断效能分析

以临床综合诊断结果为金标准,免疫印迹法联合间接免疫荧光法检测自身免疫性肝病的灵敏度 92.39%、特异度 96.25%、准确率 94.17%;经检验,两种方法联合检测一致性良好 ($Kappa=0.876$, $P<0.05$)。

3 讨论

自身免疫性肝病是一组因机体自身免疫功能紊乱,产生针对肝细胞及胆管上皮细胞的自身抗体,进而引发肝脏慢性炎症损伤的疾病,早期精准的抗体检测是疾病诊断、分型及预后评估的关键。既往临床常采用单一检测方法,存在灵敏度不足、假阳性率高、分型能力有限等局限,难以满足临床早期精准诊断的需求。本研究采用免疫印迹法联合间接免疫荧光法检测自身免疫性肝病相关抗体,结果显示,观察组特异性抗体阳性率显著高于对照组,联合检测具有较高的灵敏度与特异度,可为临床诊断提供可靠依据^[11]。

免疫印迹法作为固相免疫检测技术,可将多种纯化抗原固定于硝酸纤维素膜上,一次性完成多项特异性抗体检测,其原理基于抗原-抗体特异性结合,通过酶促显色反应实现结果判读,不受血清中其他干扰物质影响,特异性更强、结果重复性更好。本研究使用的免疫印迹试剂盒可精准检测 AMA-M2、Sp100、gp210 等 6 项核心抗体,其中 AMA-M2

是原发性胆汁性胆管炎的标志性抗体,对疾病早期诊断敏感度最高, gp210、Sp100 抗体可辅助疾病分型、评估病情进展及预后风险, LC1、SLA 抗体则对自身免疫性肝炎的诊断与鉴别具有重要意义;而间接免疫荧光法作为自身抗体检测的经典初筛手段,可快速完成全谱抗体筛查,直观判断荧光类型,明确自身免疫性肝病的筛查方向,两种方法联合应用可实现“初筛+精准定性”的互补优势,有效弥补单一方法的局限性,既避免漏诊,又减少假阳性干扰,大幅提升诊断准确率^[12]。

本研究结果显示,联合检测的诊断特异度可达 96.25%,能有效区分自身免疫性肝病与健康人群,同时灵敏度达 92.39%,可识别早期隐匿病例,与国内相关研究结论一致。相较于单一检测方案,联合检测无需重复操作,检测效率更高,结果更稳定,适配临床常规筛查与精准诊断的双重需求。

4 结论

免疫印迹法联合间接免疫荧光法检测自身免疫性肝病相关抗体,特异性强、诊断效能高、操作规范可控,可实现抗体初筛与精准定性的优势互补,有效提升自身免疫性肝病的早期诊断准确率,为疾病分型、病情评估提供可靠的实验室支撑,可作为临床自身免疫性肝病筛查及诊断的优选检测方案,值得临床推广应用。

参考文献:

- [1]关茜,杨帅,郭元成,等. 肝脏、肾脏疾病患者中医面型特征研究[J].时珍国医国药,2021,32(10):2552-2554.
- [2]曾蓓. 肝病治疗仪结合行为习惯逆转疗法在慢性肝炎患者应用效果[J].医疗装备,2023,36(05):128-130.
- [3]冉应会,卢维,杨富梅,等. 自身免疫性肝病与自身免疫性甲状腺疾病共病的机制及临床特点[J].临床肝胆病杂志,2026,42(02):432-437.
- [4]秦宸. 临床检验生化指标在不同类型肝病患者诊断中的应用分析[J].现代诊断与治疗,2022,33(02):237-239+242.
- [5]张宏. 化学发光法检测 PIVKA-II 的性能及 PIVKA-II 联合超声在代谢相关脂肪性肝病中的临床应用[J].实验室检测,2025,3(19):164-167.
- [6]张婷. 间接免疫荧光法与蛋白质免疫印迹试验检测自身免疫性肝炎抗体的效果[J].实用检验医师杂志,2021,13(01):16-18.
- [7]余芳源,卢燕娇. 全自动化学发光免疫分析仪在乙肝病毒性肝炎两对半检测中的应用[J].中国医疗器械信息,2025,31(18):90-92.
- [8]Androulakis N, Striligka O, Nioti E, et al. ANA fluorescence patterns and low C4 are associated with higher antiphospholipid antibody serological intensity in routine diagnostic testing[J].Clinical chemistry and laboratory medicine,2026,2025-1709.
- [9]冉应会,卢维,杨富梅,等. 自身免疫性肝病与自身免疫性甲状腺疾病共病的机制及临床特点[J].临床肝胆病杂志,2026,42(02):432-437.
- [10]Guo T, Ma X. Evaluation of large language models in supporting autoimmune liver disease diagnosis and clinical decision-making: advantages of reasoning-based models[J].International Journal of Clinical Pharmacy,2026,(prepublish):1-10.
- [11]李昊隆,李永哲. 实验室检查在自身免疫性肝病临床诊断中的应用现状与挑战[J].国际检验医学杂志,2025,46(15):1801-1806.
- [12]桂铁军,陈聪哲,崔慧敏,等. 自身免疫性肝病患者抗 SLA/LP、LKM-1、GP210 抗体检测及临床意义分析[J].标记免疫分析与临床,2024,31(12):2266-2270.