

DIAGNOSTIC VALUE OF SERUM ANTINUCLEAR ANTIBODY TEST BY INDIRECT FLUORESCENCE TECHNIQUE AND AUTOANT TESTING SPECIFICITY BY IMMUNOBLOT TECHNIQUE VINMEC TIMES CITY INTERNATIONAL GENERAL HOSPITAL

Le Thi Na*, Pham Thi Thuan, Nguyen Thi Thuy Hang, Tran Quynh Trang, Truong Cong Duan

*Vinmec Times City International General Hospital -
458 Minh Khai, Times City Urban Area, Vinh Tuy Ward, Hanoi City, Vietnam*

Received: 08/09/2025

Revised: 25/09/2025; Accepted: 21/10/2025

ABSTRACT

Objective: To determine the clinical value of antinuclear antibody (ANA) testing using indirect immunofluorescence (IIF) and immunoblot (EUROBlotONE) techniques in the diagnosis of autoimmune diseases.

Subjects and Methods: The study was conducted from January 2024 to June 2024 at the Laboratory Department, Vinmec Times City International General Hospital. A total of 530 patients who were prescribed ANA testing by the IIF method were included, among whom 177 samples were further tested for ANA 23 Profile using the EUROBlotONE system. The study design was a cross-sectional descriptive study.

Results: Among 530 patients tested by ANA-IIF, the overall positive rate was 43%, with females accounting for 58.7%. Ten disease groups were identified, with systemic autoimmune disorders being the most common indication. The positivity rate for ANA 23 Profile increased in correlation with higher fluorescence intensity. The most frequent fluorescence patterns were speckled and homogeneous. In the ANA 23 Profile test, the homogeneous pattern was mainly associated with anti-dsDNA, nucleosome, and histone antibodies, whereas the speckled pattern was associated with SS-A, Ro-52, and SS-B antibodies.

Conclusion: The ANA test using indirect immunofluorescence is valuable for the diagnosis of autoimmune diseases and may also be extended to investigate unexplained organ disorders. The ANA 23 Profile test helps identify specific autoantibodies and should be used as a complementary assay for screening and monitoring autoimmune conditions.

Keywords: Antinuclear antibody (ANA), autoantibodies, indirect immunofluorescence (IIF).

*Corresponding author

Email: bs.lenapt@gmail.com Phone: (+84) 986898679 <https://doi.org/10.52163/yhc.v66iCD19.3546>

GIÁ TRỊ CHẨN ĐOÁN CỦA XÉT NGHIỆM KHÁNG THỂ KHÁNG NHÂN HUYẾT THANH BẰNG KỸ THUẬT MIỄN DỊCH HUỖNH QUANG GIÁN TIẾP VÀ XÉT NGHIỆM TỰ KHÁNG THỂ ĐẶC HIỆU BẰNG KỸ THUẬT IMMUNOBLOT TẠI BỆNH VIỆN ĐA KHOA QUỐC TẾ VINMEC TIMES CITY

Lê Thị Na*, Phạm Thị Thuận, Nguyễn Thị Thúy Hằng, Trần Quỳnh Trang, Trương Công Duẩn

*Bệnh viện Đa khoa Quốc tế Vinmec Times City -
458 Minh Khai, Khu đô thị Times City, P. Vĩnh Tuy, Tp. Hà Nội, Việt Nam*

Ngày nhận: 08/09/2025

Ngày sửa: 25/09/2025; Ngày đăng: 21/10/2025

ABSTRACT

Mục tiêu: Xác định giá trị chẩn đoán của ANA bằng kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang gián tiếp và tự kháng thể đặc hiệu bằng kỹ thuật miễn dịch thanh giấy thấm trong chẩn đoán các bệnh tự miễn.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 1/2024 đến tháng 6/2024 tại khoa Xét nghiệm bệnh viện Đa khoa Quốc tế Vinmec Times City. Đối tượng nghiên cứu: 530 người bệnh được chỉ định xét nghiệm ANA huyết thanh bằng kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang gián tiếp trong đó có 177 mẫu được chỉ định xét nghiệm ANA 23 Profile trên máy EUROBlotONE. Phương pháp nghiên cứu: mô tả cắt ngang, hồi cứu. Sử dụng mẫu huyết thanh người bệnh làm xét nghiệm.

Kết quả: Trong số 530 người bệnh xét nghiệm ANA miễn dịch huỳnh quang gián tiếp tỷ lệ dương tính chung là 43%, tỷ lệ nữ 58,7%. Có 10 nhóm bệnh được chỉ định, bệnh lý hệ thống có chỉ định nhiều nhất. Tỷ lệ dương tính với ANA 23 profile tăng theo mức độ bắt màu huỳnh quang. Kiểu bắt màu huỳnh quang hay gặp nhất là speckled và homogeneous. Với xét nghiệm ANA 23 profile kiểu bắt màu homogeneous chủ yếu là Ds DNA, nucleosome, histones, kiểu bắt màu speckled chủ yếu là SS-A, Ro-52, SS-B.

Kết luận: Xét nghiệm kháng thể kháng nhân bằng kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang có giá trị trong chẩn đoán bệnh tự miễn, có thể mở rộng trong trường hợp bệnh lý các cơ quan không giải thích được nguyên nhân và xét nghiệm ANA 23 profile được chỉ định để xác định chính xác các tự kháng thể. Hai xét nghiệm này bổ sung cho nhau trong sàng lọc, chẩn đoán bệnh.

Từ khóa: Kháng thể kháng nhân, tự kháng thể, miễn dịch huỳnh quang gián tiếp.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Các bệnh tự miễn có nhiều triệu chứng và đặc điểm phát hiện khác nhau, cơ chế chưa rõ ràng. Các bệnh tự miễn ảnh hưởng đến các cơ quan cụ thể như tuyến giáp, thượng thận, tuyến tụy hoặc ảnh hưởng toàn thân như da, cơ, khớp, mô. Việc phát hiện các tự kháng thể trong huyết thanh, huyết tương đóng vai trò quan trọng trong chẩn đoán và theo dõi điều trị bệnh lý tự miễn. Kháng thể kháng nhân (ANA) là một công cụ sàng lọc và chẩn đoán rất có giá trị đối với các bệnh tự miễn. Xét nghiệm này thường dương tính trong nhiều bệnh tự miễn như lupus ban đỏ hệ thống; viêm khớp dạng thấp; xơ cứng bì hệ thống,

viêm gan tự miễn, viêm tuyến giáp Hashimoto... nhưng cũng có thể dương tính trong các bệnh lý không phải tự miễn như ung thư, nhiễm trùng hoặc ở những người thân thể hệ thứ nhất không có triệu chứng của người bệnh mắc bệnh tự miễn.

Hiện nay có hai phương pháp chính để phát hiện ANA trong thực hành lâm sàng là kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang gián tiếp (ANA-IIF) và kỹ thuật miễn dịch thanh giấy thấm, trong đó ANA-IIF là kỹ thuật phát hiện kháng thể kháng nhân đã được chấp thuận bởi Hội Khớp học Hoa Kỳ (ACR) và Liên đoàn chống Thấp khớp châu Âu (EULAR). Xét nghiệm ANA-IIF

*Tác giả liên hệ

Email: bs.lenapt@gmail.com Điện thoại: (+84) 986898679 <https://doi.org/10.52163/yhc.v66iCD19.3546>

được sử dụng như xét nghiệm sàng lọc và ANA kỹ thuật miễn dịch thanh giấy thấm để xác định chính xác tự kháng thể đặc hiệu giúp bác sỹ lâm sàng giới hạn các tự kháng thể đặc hiệu lưu hành trong huyết thanh người bệnh phục vụ chẩn đoán bệnh tự miễn.

Cho đến nay, có ít dữ liệu về giá trị lâm sàng của ANA được xét nghiệm bằng các kỹ thuật khác nhau được công bố ở trong nước. Do đó, chúng tôi tiến hành nghiên cứu này nhằm mục tiêu:

Xác định giá trị lâm sàng của xét nghiệm ANA huyết thanh bằng kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang gián tiếp và kỹ thuật miễn dịch thanh giấy thấm trong chẩn đoán các bệnh tự miễn.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 1/2024 đến tháng 6/2024 tại khoa Xét nghiệm bệnh viện Đa khoa Quốc tế Vinmec Times City.

- Đối tượng nghiên cứu: 530 người bệnh được chỉ định xét nghiệm ANA bằng kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang gián tiếp trong đó có 177 mẫu được xét nghiệm ANA 23 Profile (sàng lọc và định danh đồng thời 23 type kháng thể kháng nhân) trên máy EUROblotONE.

- Thiết kế nghiên cứu: mô tả cắt ngang, hồi cứu từ bệnh án điện tử.

- Cỡ mẫu: áp dụng theo phương pháp thuận tiện gồm tất cả người bệnh được chỉ định xét nghiệm trong thời gian thu thập số liệu.

- Lấy mẫu: lấy 2ml máu không chống đông, ly tâm tách huyết thanh và bảo quản ở 2-80 C để thực hiện xét nghiệm 2-3 lần/ tuần.

- Kỹ thuật xét nghiệm:

+ Kỹ thuật ANA IIF: Sử dụng cơ chất là tế bào HEp20-10 phối hợp với gan linh trưởng trên hệ thống xét nghiệm của Hãng EUROIMMUN. Hiệu giá dương

tính là $\geq 1:100$. Đọc kết quả trên kính hiển vi huỳnh quang xác định mức độ bắt màu huỳnh quang và kiểu bắt màu nhân tế bào.

+ Kỹ thuật ANA 23 profile: Nguyên lý miễn dịch thanh giấy thấm (immunoblot): kit xét nghiệm là thanh thử phủ 23 loại kháng nguyên khác nhau. Thanh thử sẽ được ủ với bệnh phẩm pha loãng 1:101, kết quả sẽ được phân tích bằng phần mềm EUROLIneScan. Cả hai kỹ thuật xét nghiệm ANA đều được thực hiện theo hướng dẫn của nhà sản xuất và các quy trình kỹ thuật đã được Bộ Y tế ban hành.

- Thu thập số liệu: Dữ liệu từ người bệnh được trích xuất từ bệnh án điện tử, các kết quả xét nghiệm được nhập bằng phần mềm...Loại bỏ các số liệu không có đủ thông tin.

- Phương pháp phân tích số liệu: Số liệu được thống kê dựa trên phần mềm SPSS.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

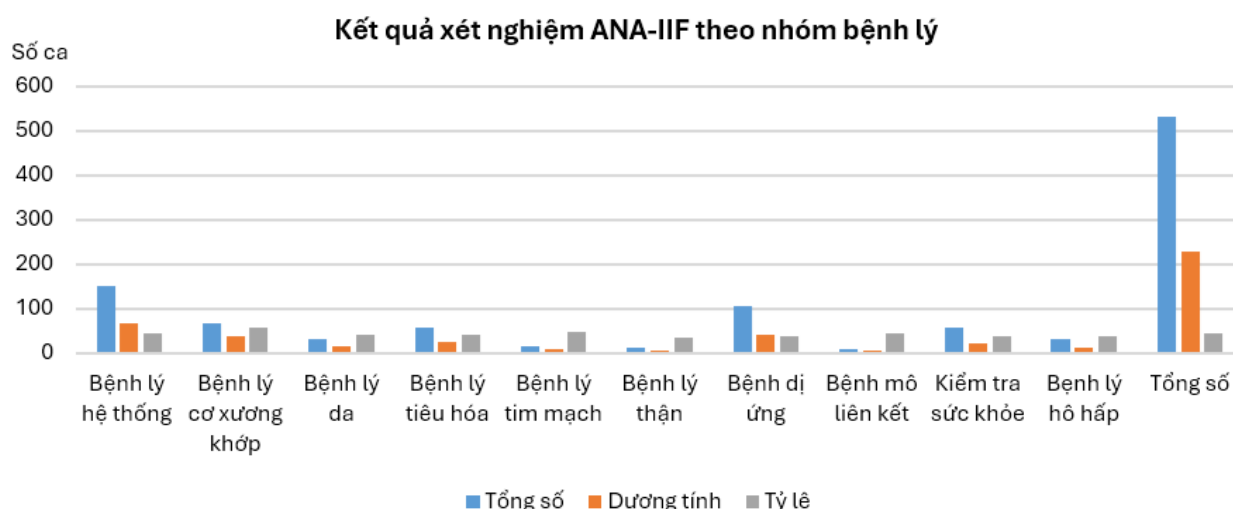
3.1. Đặc điểm đối tượng nghiên cứu

Bảng 1. Đặc điểm đối tượng nghiên cứu theo tuổi và giới

Đối tượng	Xét nghiệm ANA- IIF		Tỷ lệ
	Tổng số	Dương tính	
Nam	219	87 (39,8%)	41,3
Nữ	311	141 (43,3%)	58,7
Tổng số	530	228 (100%)	100
Tuổi trung bình	48 ± 18		

Nhận xét: Xét nghiệm ANA huyết thanh được chỉ định ở nữ nhiều hơn nam (58,7% và 41,3%). Tỷ lệ dương tính ở nữ giới là 45,3% và nam giới là 39,7%. Tuổi trung bình là 48 ± 18.

3.2. Kết quả xét nghiệm ANA theo nhóm bệnh lý



Biểu đồ 1. Kết quả xét nghiệm ANA-IIF theo nhóm bệnh lý

Nhận xét: Nhóm bệnh lý hệ thống và bệnh dị ứng có chỉ định nhiều nhất.

3.3. Kết quả xét nghiệm ANA-IIF theo kiểu bắt màu nhân tế bào

Bảng 2. Kết quả xét nghiệm theo kiểu bắt màu nhân tế bào

Nhóm bệnh lý	Kiểu bắt màu nhân tế bào							Tổng số
	Centro mere	Homo geneous	Nuclear dot	Nucleo-lar	Speckled	DFS	Cytop lasmic	
Bệnh lý hệ thống		13	1	4	40		17	75
Bệnh lý cơ xương khớp	1	4	2	3	25	1	6	42
Bệnh lý da	1	3	1		9		1	15
Bệnh lý tiêu hóa	1			2	16	2	7	28
Bệnh lý tim mạch		1			8			9
Bệnh lý thận		1			3			4
Bệnh dị ứng	1	5	1	4	26		7	44
Bệnh mô liên kết					2		2	4
Kiểm tra sức khỏe		1		1	17		3	22
Bệnh lý hô hấp		3		1	2		7	13
Tổng số	4	31	5	15	148	3	50	256

Nhận xét: Kiểu bắt màu gặp nhiều nhất là speckled. Trong nghiên cứu của chúng tôi có 28 trường hợp bắt màu huỳnh quang kép.

3.4. Tỷ lệ dương tính kháng thể đặc hiệu bằng immunoblot theo mức độ bắt màu huỳnh quang

Bảng 3. Tỷ lệ dương tính kháng thể đặc hiệu bằng immunoblot theo mức độ bắt màu huỳnh quang

Mức độ dương tính ANA-IIF	ANA 23 profile			p
	N	Dương tính	%	
1+	41	26	63,4%	> 0,05%
2+	47	35	74,5%	
3+	13	12	92,3%	
Tổng số	101	73	72,3%	

Nhận xét: Tỷ lệ ANA 23 profile dương tính tăng theo mức độ bắt màu huỳnh quang, tỷ lệ chung là 72,3%.

3.5. Tần suất xuất hiện kháng thể đặc hiệu bằng immunoblot theo kiểu bắt màu huỳnh quang

Bảng 4. Tần suất xuất hiện kháng thể đặc hiệu bằng immunoblot theo kiểu bắt màu huỳnh quang

ANA 23 profile	Centromere (n = 1)	Homogeneous (n = 16)	Nuclear dote (n = 1)	Nucleolar (n = 5)	Speckled (n=58)	DFS (n=2)	Cytoplasmic (n = 27)
ds DNA		13			1		2
Nucleosome		11			1		2
Histones		14			1		2
SS-A					12		7
Ro-52		1			11		11
SS-B					6		1
nRNP/Sm					12		2

ANA 23 profile	Centromere (n = 1)	Homogeneous (n = 16)	Nuclear dote (n = 1)	Nucleolar (n = 5)	Speckled (n =58)	DFS (n=2)	Cytoplasmic (n = 27)
Sm					5		1
Mi-2α protein					9		2
Mi-2β protein					8		5
Ku protein					10		6
Centromere protein A	1						1
Centromere protein B	1						
Sp 100 protein			1		1		1
PML protein							
Scl-70			1	1			
PM-Scl 100 protein				2			1
PM-Scl75 pro- tein				3			3
RP11				3			
RP155				1			3
gp210 protein					2		1
PCNA					2		
DFS70		3			5	2	

Nhận xét: Kiểu bắt màu homogeneous chủ yếu là Ds DNA, nucleosome, histones, kiểu bắt màu speckled chủ yếu là SS-A, Rô-52, SS-B.

4. BÀN LUẬN

Kháng thể kháng nhân là một xét nghiệm được chỉ định ngày càng rộng rãi ở các độ tuổi tuổi, trung bình là 48 tuổi. Nghiên cứu của Nguyễn Hoàng Bắc (2002) về vai trò của xét nghiệm tìm kháng thể kháng nhân (ANA) trong chẩn đoán bệnh Lupus ban đỏ hệ thống có nhóm tuổi 17- 40 chiếm tỉ lệ cao nhất là 65,7%[1]. Nghiên cứu của Nguyễn Hoàng Phương (2024) so sánh giá trị chẩn đoán của xét nghiệm kháng thể kháng nhân bằng kỹ thuật Elisa và ANA-IIF trong các bệnh lý tự miễn tuổi trung bình là 37.97 ± 13.84 [2]. Trong 530 trường hợp thuộc đối tượng nghiên cứu thấy nữ nhiều hơn nam (311 nữ và 219 nam) và tỷ lệ dương tính ở nữ cũng nhiều hơn nam (45,3% và 39,7%). Nghiên cứu này của chúng tôi cũng phù hợp với các nghiên cứu của Nguyễn Hoàng Phương (Nữ/nam là 43/14)[2].

Chúng tôi chia 10 nhóm bệnh lý theo chẩn đoán của bác sĩ lâm sàng. Trong đó có 2 nhóm gặp chỉ định nhiều là bệnh hệ thống và dị ứng. Nhóm kiểm tra sức khỏe có tỷ lệ dương tính là 38,2%, điều này được lý

giải là nhóm này bao gồm những người khỏe mạnh, được tư vấn kiểm tra bệnh lý tự miễn. Trong số 256 trường hợp dương tính ANA- IIF có 148 mẫu kiểu bắt màu speckled (57,8%) chiếm tỷ lệ cao nhất, tiếp theo là 31 mẫu kiểu bắt màu homogeneous (12,1%), ít gặp nhất là DFS với 3 mẫu (1.17%). Trong nghiên cứu của Nguyễn Hoàng Phương cũng gặp tỷ lệ tương tự nghiên cứu của chúng tôi (53,23%;16,13% và 4,84%). Nghiên cứu của Fernanda và các cộng sự cũng cho thấy tỉ lệ bắt màu speckled phổ biến trong nhóm bệnh tự miễn, chiếm 40,6%[3]. Trong nghiên cứu của chúng tôi, tỉ lệ dương tính kháng thể đặc hiệu bằng immunoblot ở mức độ lắng đọng 2+ và 3+ là 74,5% và 92,3% cao hơn các mức độ lắng đọng 1+ (63,4%), tuy nhiên sự chênh lệch này chưa có ý nghĩa thống kê với $p > 0.05$. Nghiên cứu của Phạm Thị Chúc có mối tương quan giữa mức độ bắt màu huỳnh quang với số lượng tiêu chuẩn chẩn đoán ở người bệnh SLE, mức độ bắt màu càng cao thì số lượng tiêu chuẩn chẩn đoán càng cao[4]. Trong nhóm bệnh lý hệ thống kiểu bắt màu huỳnh quang gặp nhiều nhất là specked, tiếp theo là homogeneous. Nghiên cứu của Phạm Thị Chúc cũng có tỉ lệ kiểu bắt màu cao nhất là kiểu homogeneous 40,7%, tiếp đó là kiểu specked chiếm 33,1%[4]. Nghiên cứu của Sun Ah Lee trong nhóm người bệnh SLE, kiểu bắt specked, homogeneous thường được tìm thấy

nhất[5].

Các tự kháng thể đặc hiệu sẽ kết hợp với kháng nguyên nhân nhất định và tạo nên các kiểu bắt màu huỳnh quang khác nhau, do đó các tự kháng thể được tìm thấy với tỉ lệ khác nhau theo từng kiểu bắt màu huỳnh quang cụ thể. Ở kiểu bắt màu homogeneous, tự kháng thể có tần suất xuất hiện nhiều là histones, nucleosome, DsDNA. Các nghiên cứu được đưa ra trước đó rằng mẫu có kiểu bắt màu homogeneous có thể tìm các kháng thể kháng dsDNA, histones, nucleosomes nếu có nghi ngờ lupus ban đỏ về mặt lâm sàng[6], phù hợp với nghiên cứu của chúng tôi. Kiểu bắt màu speckled được tìm thấy phổ biến nhất là tự kháng thể SS-A, Ro-52, nRNP/Sm, SS-B, Mi-2 α , Mi2- β . Các tự kháng thể SS-A có thể được tìm thấy với kiểu bắt màu speckled ở người bệnh có nghi ngờ hội chứng Sjögren về mặt lâm sàng được đưa ra trong nghiên cứu của Caroline[7]. Nghiên cứu của Z Betteridge tự kháng thể kháng Ku, Mi2- β cũng có mặt khi ANA dương tính với kiểu bắt màu speckled và có nghi ngờ xơ cứng bì về mặt lâm sàng[8].

5. KẾT LUẬN

Xét nghiệm kháng thể kháng nhân bằng kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang có giá trị trong chẩn đoán bệnh tự miễn, cần mở rộng chỉ định trong những trường hợp bệnh lý các cơ quan không giải thích được nguyên nhân và xét nghiệm ANA 23 profile được chỉ định để xác định chính xác các tự kháng thể. Hai xét nghiệm này bổ sung cho nhau để sàng lọc và chẩn đoán bệnh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Nguyễn Hoàng Bắc. Khảo sát một số tự kháng thể thường gặp trong bệnh lupus ban đỏ hệ thống. Vietnam Medical Journal No 2- April-2023.
- [2] Nguyễn Hoàng Phương. So sánh giá trị chẩn

- đoán của xét nghiệm kháng thể kháng nhân bằng kỹ thuật Elisa và miễn dịch huỳnh quang gián tiếp trong các bệnh lý tự miễn. Vietnam Medical Journal No 3- August- 2024:360-363.
- [3] Wei Q, Jiang Y, Xie J, Lv Q, Xie Y, Tu L, et al. Analysis of antinuclear antibody titers and patterns by using HEp-2 and primate liver tissue substrate indirect immunofluorescence assay in patients with systemic autoimmune rheumatic diseases. J Clin Lab Anal. 2020 Oct 13;34:e23546.
- [4] Phạm Thị Chúc. Kết quả xét nghiệm tìm kháng thể kháng nhân bằng kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang gián tiếp trên tế bào Hep-2 tại bệnh viện Da liễu trung ương [Khóa luận tốt nghiệp bác sỹ đa khoa]. Đại học Y Hà Nội; 2015.
- [5] Lee SA, Kahng J, Kim Y, Park Y, Han K, Kwok S, et al. Comparative Study of Immunofluorescent Antinuclear Antibody Test and Line Immunoassay Detecting 15 Specific Autoantibodies in Patients With Systemic Rheumatic Disease. J Clin Lab Anal. 2012 Jul 18;26(4):307-14.
- [6] Petri M, Orbai AM, Alarcón GS, Gordon C, Merrill JT, Fortin PR, et al. Derivation and Validation of Systemic Lupus International Collaborating Clinics Classification Criteria for Systemic Lupus Erythematosus. Arthritis Rheum. 2012 Aug;64(8):2677-86.
- [7] Shiboski CH, Shiboski SC, Seror R, Criswell LA, Labetoulle M, Lietman TM, et al. 2016 ACR-EULAR Classification Criteria for primary Sjögren's Syndrome: A Consensus and Data-Driven Methodology Involving Three International Patient Cohorts. Arthritis & rheumatology (Hoboken, NJ). 2017 Jan;69(1):35.
- [8] Betteridge Z, McHugh N. Myositis-specific autoantibodies: an important tool to support diagnosis of myositis. J Intern Med. 2016 Jul;280(1):8-23.