

三种不同方法检测常见过敏原的对比分析

孙宝清 韦妮莉 李 靖 钟南山

CONTRASTED ANALYSIS OF COMMON SENSITINO GEN DETECTED BY THREE DIFFERENT METHOD

SUN Baoqing, WEIN ili, LI Jing, et al

【摘要】目的 使用不同方法检测变应性疾病患者常见过敏原并将其结果作比较分析。方法 采用皮肤点刺试验、荧光酶联免疫吸附法、免疫印迹方法分别对我院 2006年 1~4月就诊于变态反应科和儿科门诊的 58例患者,检测其常见过敏原。结果 三种不同方法之间有着一定的符合性,它们之间各有优缺点,皮肤点刺试验方便,结果快速,但假阳性高并受药物的影响;对于单项过敏原 IgE定量检测,ImmunoCAP法最准确,但其收费高;敏筛作为初诊患者的过敏原筛查,结果可信,成本适中,可在临床推广。结论 三种方法均可取可信,医生根据患者的实际情况取舍,若是准备脱敏,最好结合体内、体外试验共同评价。

【关键词】 皮肤点刺 ImmunoCAP法 敏筛 过敏原 SIgE 变态反应疾病

我们通常提到的变态反应主要是指 I型变态反应,根据患者的既往过敏史可以判断出一些过敏疾病的严重程度,然而由于患者过敏史是复杂的,并且牵涉接触较多过敏原,因此,明确过敏原是诊断与治疗变应性疾病的首要问题,其中最经典的方法就是应用致敏原刺激物,直接激发患者的症状或者使用避免致敏原的方法,而这些试验是复杂的并通常使用在食物过敏方面。而对于由吸入变应原引起的过敏,通常是根据患者的临床过敏史且结合体内的皮肤点刺试验及体外的过敏原特异性 IgE (SIgE)检测来确定患者吸入哪一种变应原引起及过敏程度如何,而 SIgE的定量检测是比较精确的且与临床诊断有更好的相关性^[1],现在 SIgE的检测方法有多种,包括有全定量的或半定量的,各种方法的原理和技术均不同,本文主要应用了一种新的 SIgE检测方

法——敏筛法^[2]与传统的皮肤点刺和号称“金标准”的 ImmunoCAP法^[3](以下简称 CAP法)作比较,分析变应性疾病患者常见过敏原。

1 对象与方法

1.1 对象选择

研究对象为我院 2006年 1~4月就诊于变态反应科和儿科门诊的患者 58例,主要是支气管哮喘、过敏性鼻炎以及一些慢性咳嗽的患者。其中男性 35例,女性 23例,年龄 1~63岁,平均 26.0岁。

1.2 方法和材料

1.2.1 方法和原理 患者先进行皮肤点刺试验,然后分别抽取静脉血 4 ml入含有分离胶的真空黄头管,分离血清检测 SIgE。检测的过敏原包括螨虫、蟑螂、猫毛、狗毛、花粉和霉菌,部分患者检测了一些常见的食物。SIgE测定采用两种方法:一种是大家熟悉的 ImmunoCAP荧光酶联免疫法,变应原预先结合在固相载体帽状物的 ImmunoCAP中,37 孵

孙宝清 韦妮莉 李 靖 钟南山:广州呼吸疾病研究所 广东广州 510120

(接上页)

I型变态反应的主要病理生理变化是毛细血管通透性增加,血管扩张,分泌增多和平滑肌痉挛,在全身各处都可以引起相应的临床表现。本组病人有 8例述明确的食物过敏史,且进食后引起哮喘发作,符合 I型变态反应的临床表现。除哮喘发作外,本组病人还表现有皮肤发痒、荨麻疹、血管神经性水肿等,从并发症可以看出,许多器官、系统能同时受累。因此,对于同时伴有皮肤或消化道症状的哮喘病人要警惕食物过敏的可能。

本组从致敏食物的品种看,淡水鱼占首位,其次为海鱼、虾、芝麻、红小豆等,可能这类食物的抗原性强,加之病人特

异性过敏体质,接触这类抗原后易引起强烈反应。

本组 36例哮喘病人,其中 23例还伴有非食物诱发哮喘,说明哮喘病人具支气管反应性亢进,一进食过敏食物常诱发哮喘或加重哮喘,而稳定期食用这类食物则安然无恙,这提示支气管特异性和非特异性反应关系密切。可以劝病人在发病季节暂停进食可疑食物及相应食物,而不全年限制。

总之,食物过敏是支气管哮喘的一种重要诱因,哮喘可以是食物过敏的一种症状,临床上要认识到这点,以便及时诊治。

育,如患者血清中有针对该变应原的 S IgE,即形成抗此变应原抗体复合物,洗脱;加入酶标记的兔抗人 IgE 抗血清(酶标二抗),形成固相载体-变应原-S IgE-酶标二抗的结合物,再次洗脱;加入底物,产生酶催化荧光产物;终止液终止反应;测定荧光值。根据荧光吸光度的大小换算成 S IgE 的含量;另一种是 MED W ISS 公司出品的 Allergy-Screen(敏筛)过敏原检测系统采用免疫印迹方法,将用于体外检测的特异性过敏原,固定于硝酸纤维素膜表面,硝化纤维素膜至多可结合 20 种抗原,硝化纤维素膜置于一塑料反应槽中,首先,加入患者血清,室温下孵育,过敏原 S IgE 抗体就会与相应的抗原结合并吸附于硝化纤维素膜表面,冲洗,除去未结合的抗体,接着加入生物素标记的抗人 IgE 抗体,它又与上一步反应中 S IgE 结合,冲洗,除去未结合的抗体;接着再加入碱性磷酸酶标记的链霉亲和素,再与上步反应中的生物素和阳性对照上的生物素结合,洗脱,最后加入 BCIP 底物,与碱性磷酸酶发生颜色反应,并在试剂条特异性反应部位上出现沉淀,颜色的深浅与血清标本中的 S IgE 含量成正比。

1.2.2 仪器和试剂 第一种检测仪器为 ImmunoCAP-100 检测系统,及其配套试剂均由 Phamacia 公司提供,操作及结果由仪器自动完成;第二种应用一专用 CCD 相机进行快速分析的敏筛系统,实验完成后用专用软件分析相应的过敏原条带颜色,计算得出的每一条带的面积积分再与软件中已存储的标准曲线(药理学中剂量依赖性的对数公式)作对比,得出 S IgE 的浓度,并进行 1~6 的分级评估。

1.3 数据处理

皮试以其中一种过敏原出现风团即为阳性,CAP 法和敏筛法以结果不小于 0.35 KU/L 为阳性。本实验未对敏筛系统中所有的过敏原进行对比研究,而仅对已经皮试和(或)CAP 系统确定的过敏原进行了比较研究,所以研究中每种过敏原患者标本数量也不相同。所有数据经 SPSS 10.0 软件包进行统计学处理,各方法之间比较采用 χ^2 分析检验。

2 结果

在检测的 58 例变态反应性疾病的患者中,皮试做了 39 例,阳性率为 89.74%,CAP 法测 S IgE 做了 58 例,阳性率为

79.31%,敏筛法测 S IgE 做了 57 例,阳性率为 87.72%。从以下 6 个表发现:在广东地区,变态反应性疾病的患者中,首要的过敏原是螨虫,其次是蟑螂,接着是猫毛、狗毛,再是花粉、霉菌等。纵观三种方法,皮试的灵敏度最高,容易出现假阳性,CAP 法与敏筛法均是定量检测 S IgE,所以特异度与准确度较高。

从表 1 可见,对于螨过敏的,皮试与敏筛和 CAP 法的敏感度分别是 97.14% 和 91.43%,特异度均是 100%,而诊断有效性达到 97.37% 和 92.11%;敏筛与 CAP 法的敏感度是 93.18%,特异度只有 77.78%,而诊断有效性是 90.57%。因此,诊断螨过敏的,三种方法均可信,各个之间进行 χ^2 分析 $p < 0.01$,由于皮试的敏感度高,所以如果碰到皮试螨虫一个“+”的患者,建议再进行体外 S IgE 的检测,敏筛与 CAP 法均可行。

从表 2 可见,对于蟑螂过敏的,敏筛对 CAP 法敏感度是 100%,也就是说,只要采用敏筛法做出蟑螂阳性的患者,CAP 结果一定是阳性,反之,并不成立,所以此两法的准确度之间只有 50%,而在皮试与敏筛的比较中,特异度达 100%,而敏感度只有 50%, $p < 0.01$ 。纵观三法,对于蟑螂过敏的患者,皮试的灵敏度过高,敏筛的灵敏度过低,因此 CAP 法检测最准确。

从表 3 可见,对于猫毛、狗毛过敏的,敏筛对 CAP 法敏感度、特异度及准确度都大约 70% 左右,结合皮试,敏筛的特异度较高,达 96%,由于阳性患者较少,皮试的假阳性较高,所以对于猫毛、狗毛过敏的患者,皮试的灵敏度过高,敏筛和 CAP 法均可信。

从表 4 可见,由于花粉较复杂,它包括多种过敏原,本文指的是在检测的所有花粉过敏原中只要有一种阳性,结果就以阳性表示。对于花粉过敏的,敏筛对 CAP 法敏感度、特异度及准确度均在 70% 以上,但由于 CAP 法收费过高,只能检测少量种类花粉过敏原,而在我们检测的皮试中,标准化的点刺过敏原也只有两种,因此结合我们的客观情况,怀疑花粉过敏的检测还是敏筛法更优越。更有趣的是:原以为广东地区花粉过敏的人较少,但通过此实验我们发现本地区对柏树过敏的人还不少。

表 1 螨

“敏筛”				Skin test				Skin test					
U	阳性	阴性	合计	U	阳性	阴性	合计	敏筛	阳性	阴性	合计		
n				n									
i	阳性	41	2	43	i	阳性	32	0	32	阳性	34	0	34
C	阴性	3	7	10	C	阴性	3	3	6	阴性	1	3	4
A	合计	44	9	53	A	合计	35	3	38	合计	35	3	33
R				R									
10				10									

表 2 蟑螂

“敏筛”				Skin test				Skin test					
U	阳性	阴性	合计	U	阳性	阴性	合计	敏筛	阳性	阴性	合计		
n				n									
i	阳性	7	7	14	i	阳性	8	0	8	阳性	6	0	6
C	阴性	0	2	2	C	阴性	2	0	2	阴性	7	25	32
A	合计	7	9	16	A	合计	10	0	10	合计	13	25	38
R				R									
10				10									

表 3 猫毛、狗毛

“敏筛”				Skin test				Skin test				
U n i C A R 10	阳性	阴性	合计	U n i C A R 10	阳性	阴性	合计	敏 筛	U n i C A R 10	阳性	阴性	合计
	4	4	8		3	1	4			2	1	3
	2	9	11		6	2	8			11	24	35
	6	13	19		9	3	12			13	25	38

表 4 花粉

“敏筛”				Skin test				Skin test				
U n i C A R 10	阳性	阴性	合计	U n i C A R 10	阳性	阴性	合计	敏 筛	U n i C A R 10	阳性	阴性	合计
	5	2	7		1	3	4			1	8	9
	2	5	7		2	3	5			4	26	30
	7	7	14		3	6	9			5	34	39

表 5 霉菌

“敏筛”				Skin test				Skin test				
U n i C A R 10	阳性	阴性	合计	U n i C A R 10	阳性	阴性	合计	敏 筛	U n i C A R 10	阳性	阴性	合计
	2	0	2		2	0	2			2	0	2
	0	5	5		2	3	5			3	33	36
	2	5	7		4	3	7			5	33	38

表 6 食物

“敏筛”				Skin test			
U n i C A R 10	阳性	阴性	合计	U n i C A R 10	阳性	阴性	合计
	3	2	5		1	0	1
	3	2	5		0	0	0
	6	4	10		1	0	1

从表 5 可见,本地区对于霉菌过敏的患者极少,只要是过敏,CAP法和敏筛均能测出,两法的敏感度和特异度达 100% ($p < 0.05$),但由于例数较少,不能下结论。纵观三法,只要是 CAP或敏筛法测出是阳性的,皮试均为阳性。

从表 6 可见,由于检测的例数较少,采用 CAP法和敏筛一共检测 10例食物过敏原,其两法的敏感度、特异度和准确度均是 50%,因此对于食物过敏原的标准还需进一步探索。

3 讨论

研究显示,三种不同方法之间有着一定的符合性。它们之间各有优缺点,皮肤点刺试验方便,15分钟出结果,但假阳性高并受药物的影响;对于单项过敏原 S IgE 定量检测,CAP法最准确,但其收费高,所以我建议如果医生怀疑患者对某种变应原过敏并有意对其采取脱敏疗法,此时最好先给患者作相关的变应原的点刺试验,然后再取其阳性结果的变应原作 CAP法 S IgE 定量检测,以便进一步确诊患者的过敏原及过敏程度,再行脱敏疗法。如果患者是幼儿或者年长的老人,不适合脱敏疗法,可以先做皮试,再结合敏筛来确定过敏原,如果患者已服用了抗组胺类药物或者幼儿不能忍受点刺带来的痛苦,可直接做敏筛,它是应用专用 CCD 相机进行快速分析的 AllergyScreen 系统,是一技术先进,具有创意的过敏原定量检测系统,它将科研用途的免疫印迹技术用于实

验室日常诊断,使用针对不同疾患的抗原的特殊组合,可进行众多抗体的筛选检测。鉴于本试验操作较简便,仅需 250 μ l 血清就可以检测常见的 20种过敏原,无须昂贵的实验仪器,成本适中,对儿童尤为适用,可在临床筛查推广。

皮肤试验是体内试验,属于生物测定的范畴,是根据皮试的风团和红斑反应推测肥大细胞释放组胺的量,进而推测患者是否对该变应原过敏^[4];体外试验属于免疫化学测定,是对 S IgE 的直接测量。体内试验易受操作者技术熟练程度的影响,对结果的判定也带有一定的主观性。体外试验的操作程序化,但仪器和设备需要经常校正,否则容易出现系统误差。体内试验受药物的影响较大,如皮试前服用了抗组胺药,皮肤反应则会受到一定的抑制,其它药也可能有影响,但不如抗组胺药明显,所以在进行体内试验前均要求病人停药,但在临床工作中,经常可见到一些病人因骤然停药出现剧烈的发作,因此可采用体外试验,它则不受药物的影响,患者可在进行正常治疗的同时接受检查。

参考文献

- [1] R C C I G, CAPELLIM, M N I E R O R. A comparison of different allergometric tests, skin prick test, Pharmacia UniCAP and AD-VA Centaur, for diagnosis of allergic diseases in children[J]. Allergy, 2003, 58: 38 - 45.
- [2] H E R Z U M I, B L U M E R N, K E R S T E N W. Diagnostic and analytical performance of a screening panel for allergy[J]. Clin Chem Lab Med, 2005, 43(9): 963 - 6.
- [3] S M I T S W L, L E T Z K L, E V A N S T S. Evaluating the response of patients undergoing both allergy skin testing and in vitro allergy testing with the ImmunoCAP Technology System[J]. J Am Acad Nurse Pract, 2003, 15(9): 415 - 23.
- [4] 叶世泰. 变态反应学[M]. 北京:科学出版社, 1998: 119.