

• 经验交流 •

2 种方法检测常见过敏原特异性 IgE 的比对分析

彭洁雅¹, 杨小华¹, 孙宝清^{2△}

(1. 广州市红十字会医院, 广东广州 510220; 2. 广州医科大学附属第一医院, 广东广州 510120)

摘要:目的 分析酶联免疫荧光测定法和酶联免疫捕获法检测 4 种常见过敏原特异性 IgE (sIgE) 的结果的一致性。方法 采用 2 种方法检测屋尘螨 (D1)、德国小蠊 (I6)、牛奶 (F2)、花生 (F13) 4 种常见过敏原 sIgE。结果 2 种方法对 D1、I6、F13 sIgE 的定性检测结果具有良好的一致性。将 2 种方法检测的 4 种常见过敏原 sIgE 定量结果进行分级, 再对 2 种方法的定量分级结果进行一致性分析, 显示 2 种方法的 F13 sIgE 定量分级结果存在中等一致性 ($Kappa=0.489$), D1 和 I6 sIgE 定量分级结果一致性较差 ($Kappa$ 分别为 0.400、0.305)。以酶联免疫荧光测定法为“金标准”, 显示酶联免疫捕获法对 4 种过敏原 sIgE 的检测灵敏度都比较好, 但特异性并不十分理想。结论 酶联免疫捕获法与酶联免疫荧光测定法的检测结果具有一定的一致性, 其灵敏度和特异性尚可, 可作为过敏原检测的初筛方法。

关键词: IgE; 酶联免疫荧光测定法; 酶联免疫捕获法; 过敏原

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2014.12.062

文献标识码: B

文章编号: 1673-4130(2014)12-1649-02

过敏性疾病是一种常见病, 通常认为, IgE 是导致 I 型过敏反应的主要抗体, 通过检测患者血清过敏原的特异性 IgE (sIgE), 可明确患者的过敏原, 对于疾病的预防、诊断、治疗均具有重要意义^[1]。近年来, 随着酶联免疫捕获技术的不断完善, 基于该原理开发的 ALLERG-O-LIQ 过敏原检测系统在各实验机构推广应用。本研究以基于酶联免疫荧光测定法的 UniCAP 系统检测方法作为“金标准”, 对酶联免疫捕获法检测 4 种常见过敏原 sIgE 的结果进行对比, 分析 2 种检测方法结果的一致性, 报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 研究对象为广州医科大学附属第一医院 2009~2012 年就诊于呼吸科、变态反应科、皮肤科、儿科等科室的有过敏性反应特征的患者 151 例, 临床表现主要包括哮喘、过敏性鼻炎、荨麻疹、久咳等。其中男 87 例, 女 64 例, 年龄 1~63 岁, 平均 21.5 岁。

1.2 方法 患者分别采集静脉血 5 mL, 分离血清后移至 EP 管, -20℃ 保存待测。采用 Fooke 公司 ALLERG-O-LIQ 过敏原检测系统 (酶联免疫捕获法) 和 UniCAP 过敏原检测系统 (酶联免疫荧光测定法) 分别检测上述标本中的 4 种过敏原 [屋尘螨 (D1)、德国小蠊 (I6)、牛奶 (F2)、花生 (F13)] sIgE。每例患者标本检测上述 4 种过敏原 sIgE 中的 1 种或多种, D1、I6、F2 和 F13 sIgE 检测例数分别为 78、65、89、55 例。所有检测实行全过程质量控制。

1.3 结果判定 根据 sIgE 浓度 (IU/mL) 将结果分为 0~6 级: 0 级, sIgE < 0.35 IU/mL; 1 级, sIgE 为 0.35~<0.75 IU/mL; 2 级, sIgE 为 0.75~<3.50 IU/mL; 3 级, sIgE 为 3.50~<17.5 IU/mL; 4 级, sIgE 为 17.5~<50.00 IU/mL; 5 级, sIgE 为 50.00~100.00 IU/mL; 6 级, sIgE > 100 IU/mL。其中 0 级为阴性, 1~6 级为阳性。

1.4 统计学处理 采用 SPSS18.0 软件进行数据分析, 计数资料以百分率表示, 各组间率的一致性比较采用 $Kappa$ 检验, $Kappa$ 越接近 1, 说明一致性越好, $Kappa \geq 0.75$ 时, 两者一致性良好; $0.4 \leq Kappa < 0.75$ 时, 两者一致性一般 (中等); $Kappa < 0.4$ 时, 两者一致性较差。

2 结果

2.1 采用 2 种方法分别检测 4 种常见过敏原 sIgE, 并对结果进行阴、阳定性判断, 结果显示, 2 种方法检测 D1、I6 和 F13

sIgE 的定性结果具有一定的一致性, F2 sIgE 的定性结果不存在一致性。分析 2 种方法检测 D1、I6、F13、F2 sIgE 的定性结果的一致性, $Kappa$ 值分别为 0.740、0.619、0.615 和 0.086, 提示 2 种方法对 D1、I6 和 F13 的 sIgE 的定性结果存在较好的一致性, 而对 F2 的 sIgE 的定性结果不存在一致性。将 2 种方法检测的 4 种常见过敏原 sIgE 结果按照“1.3 结果判定”中的标准进行分级, 再对 2 种方法的定量分级结果进行一致性分析, 显示 2 种方法检测 F13 sIgE 的定量分级结果存在中等一致性 ($Kappa=0.489$), 检测 D1 和 I6 sIgE 的定量分级结果一致性较差 ($Kappa$ 分别为 0.400、0.305), F2 sIgE 的定量分级结果不存在一致性 ($Kappa=0.085$)。

2.2 以酶联免疫荧光测定法作为“金标准”, 对酶联免疫捕获法定性检测结果的灵敏度、特异性进行分析, 酶联免疫捕获法检测 D1、F2、I6、F13 的灵敏度分别为 98.4%、100.0%、84.4%、93.3%, 特异度分别为 68.8%、7.7%、80.0%、84.0%。

3 讨论

有文献曾报道, 酶联免疫荧光测定法和酶联免疫捕获法检测过敏原 sIgE 的阳性符合率很高, 阴性符合率除个别过敏原外也很好, 对多数过敏原 sIgE 的定性检测结果一致性较好, $Kappa$ 值都能接近 0.7 (F2 除外, $Kappa$ 值在 0.5 以下)^[2]。本文选取了 4 种常见的过敏原物质进行研究, 发现酶联免疫荧光测定法和酶联免疫捕获法检测 D1、I6、F13 三种过敏原 sIgE 的定性结果一致性较好, 但 $Kappa$ 值虽然均大于 0.6, 但低于文献^[2]报道的结果, 对 F2 sIgE 的定性结果不一致, 与文献^[2]报道相符合。

本研究中, 2 种方法检测 D1、I6、F13 sIgE 的定性结果一致性优于定量分级结果一致性 ($Kappa$ 值更高), 但对 F2 sIgE, 无论是定性判断还是定量分析, 2 种方法的一致性都不好, 可能是因为抗原表位及其来源区域不一致, 导致检测结果差异^[3]。过敏原的纯度对检测方法的性能也有很大影响, 如果包被的抗原或抗体中含有大量的无关蛋白, 会占据有限的反应空间, 降低检测灵敏度, 甚至产生假阳性。

Vanto 等^[4]曾指出, UniCAP 系统在检测某些特定的过敏原方面好像具有更高的灵敏度。德国一实验机构曾经做过调查^[5], 发现在不同国家的专业实验室中, 分别用不同方法对同一类血液标本进行平衡对比测试, 结果显示 UniCAP 过敏原检

△ 通讯作者, E-mail: sunbaoqing@vip.163.com。

测系统的准确率可达 73.3%, 高于其他方法, 且该法与其他方法相比, 假阴性率很低。本研究以酶联免疫荧光测定法(即 UniCAP 过敏原检测系统)作为“金标准”, 对酶联免疫捕获法(即 ALLERG-O-LIQ 过敏原检测系统)的检测灵敏度和特异度进行分析, 结果显示酶联免疫捕获法对包含吸入性和食入性在内的 4 种过敏原 sIgE 的检测灵敏度都比较好, 但特异度就不是十分理想, 该结论与文献[6]得出的结论相似, 提示酶联免疫捕获法检测结果的假阴性少, 而假阳性相对较多。

作为一种新的检测方法, 酶联免疫捕获法所需配套试剂的成本仅为 UniCAP 过敏原检测系统的一半左右, 该方法还可以进行手工操作, 通过简单的酶标仪即可得到可靠的结果。酶联免疫捕获法与“金标准”酶联免疫荧光测定法的检测结果具有一定的一致性, 且灵敏度和特异度尚可, 可以作为临床检测过敏原的初筛方法。

参考文献

[1] 孙荣, 王永红. 健康体检者 14 种食物过敏原特异性 IgG 检测及经验交流 •

健康管理方案探讨[J]. 重庆医学, 2010, 39(15): 2029-2030.
[2] Aberer W, Kr? nke B. Measurement of IgE antibodies using liquid allergens—an inter-method and inter-laboratory quality assessment [J]. Wien Klin Wochenschr, 2002, 114(21/22): 929-937.
[3] 王美玲, 冯珍如, 李志艳, 等. 斑点免疫印迹法检测变应原特异性 IgE 抗体的比对分析[J]. 中国实验诊断学, 2011, 3(3): 430-432.
[4] Vanto T, Helppilä S, Juntunen-Backman K, et al. Prediction of the development of tolerance to milk in children with cow's milk hypersensitivity[J]. J Pediatr, 2004, 144(2): 218-222.
[5] Gustafsson D, Sjöberg O, Foucard T. Sensitization to food and air-borne allergens in children with atopic dermatitis followed up to 7 years of age[J]. Pediatr Allergy Immunol, 2003, 14(6): 448-452.
[6] Taylor AI, Gould HJ, Sutton BJ, et al. Avian IgY binds to a monocyte receptor with IgG-like kinetics despite an IgE-like structure [J]. J Biol Chem, 2008, 283(24): 16384-16390.

(收稿日期: 2014-02-28)

北京地区 3~6 岁健康儿童 6 项生化指标参考区间的建立

郭 琰, 张育荣

(北京市朝阳区三环肿瘤医院检验科, 北京 100122)

摘 要:目的 建立该实验室的关于北京地区 3~6 岁儿童 6 项生化指标的参考区间。方法 筛选符合要求的健康儿童 838 名作为观察对象, 取静脉血血清用日立 7180 全自动生化分析仪和配套试剂进行 6 项生化指标检测。结果 碱性磷酸酶(ALP)、铁蛋白(FER)呈偏态分布, 乳酸脱氢酶(LDH)、总蛋白(TP)、清蛋白(ALB)、球蛋白(GLO)呈正态分布, 参考区间分别为 120~300 U/L、10~150 g/L、170~380 U/L、55~75 g/L、35~55 g/L、15~30 g/L。结论 成功建立了该实验室北京地区 3~6 岁儿童 6 项生化指标的参考区间。

关键词:生化项目; 参考值; 儿童; 北京

DOI:10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2014. 12. 063

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2014)12-1650-02

目前, 许多实验室检验指标的参考区间都是针对健康成年人而建立的, 但部分检验指标的参考区间在大多数健康儿童(尤其学龄前儿童)中是不适用的。目前尚缺少北京地区 3~6 岁学龄前儿童的碱性磷酸酶(ALP)、铁蛋白(FER)、乳酸脱氢酶(LDH)、总蛋白(TP)、清蛋白(ALB)、球蛋白(GLO)的正常参考值数据, 这促使笔者总结分析了近 2 年来本院 3~6 岁健康儿童的体检资料, 按照美国临床和实验室标准化协会(CLSI)C28-A3 文件的标准^[1], 建立了北京地区 3~6 岁儿童上述 6 项生化指标的参考区间, 报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2011 年 6 月至 2013 年 8 月, 选择本院健康体检儿童作为研究对象, 共 838 名, 其中男 438 名, 女 400 名, 年龄 3~6 岁, 按照 1 周岁作为年龄间隔分组, 各年龄组人数基本相同, 均排除服药、营养不良、发育不良, 心肺无异常, 扁桃体、肝脾、淋巴结无肿大, 体温正常, 无不良饮食习惯。上述儿童均于安静状态下空腹(空腹时间 8~14 h)采集肘静脉血 4 mL 于促凝管内, 3 000 r/min 离心 10 min 分离血清, 1 h 内送检。剔除黄疸、乳糜、溶血标本, 4 h 内完成检测。

1.2 方法 采用日本 HITACH 7180 全自动生化系统及配套校准品(罗氏, 批号: 165676-01)、配套质控品(罗氏, 批号: 167260-02、166630-02)对血清中 ALP、FER、LDH、TP、ALB 进行检测, GLO 浓度根据 TP 浓度与 ALB 浓度差值计算得出。ALP 检测试剂(批号: 042201A、081501A)、LDH 检测试剂(批号: 060300A、072501A)、TP 检测试剂(批号: 041201A)、ALB

检测试剂(批号: 051501A)均由德国莱邦(LABO)公司提供, FER 检测试剂(批号: 01018、02724)由西班牙 BioSystems 试剂和仪器公司提供。开始实验前先对仪器进行维护和校准, 质控品均在控。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件进行数据分析。用矩形法进行正态性检验, 正态分布资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用独立样本 *t* 检验, $\bar{x} \pm 1.96s$ 确定为参考区间; 偏态分布资料用中位数和百分位数, 即 $[M(P_{25}, P_{75})]$ 表示, 组间比较采用 Mann-Whitney *U* 检验, 用 $P_{2.5} \sim P_{97.5}$ 确定参考区间。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

1.4 参考区间验证 依据参考文献[1-2]标准, 从 3~6 岁健康儿童中随机选择 60 个样本, ≥ 5 个样本超出参考区间, 则视为没有通过验证。

2 结 果

离群值的判断方法参照 C28-A3 文件^[1], 将各项目数据分男、女升序排列, 疑似离群值与相邻值的差值(D)与数据全距(R)之比 $D/R \geq 1/3$ 则判断为离群值。去除离群值后, 建立的北京地区 3~6 岁儿童 6 项生化指标参考区间, 见表 1, 其中 ALP、FER 呈偏态分布, LDH、TP、ALB、GLO 呈正态分布。按照性别分类比较, 男、女之间差异无统计学意义($P > 0.05$), 则男、女参考区间可以合并。随机检测 60 个样本的上述 6 项指标, 均通过参考范围验证。

3 讨 论

儿童作为一个特殊人群, 由于其生理特性使得某些检测项