

• 论 著 •

过敏性皮肤疾病的两种过敏原检测方法的对比研究

蒋最明, 唐满玲, 顾敏, 罗文辉

(株洲市中心医院临床检验中心, 湖南株洲 412000)

摘要:目的 分析不同检测方法应用在过敏性皮肤疾病过敏原检测中的临床效果。方法 选择该院 2014 年 3 月至 2015 年 3 月门诊及住院病房收治的 74 例过敏性皮肤疾病患者作为研究对象, 采用随机数字法将其分成免疫印迹法组与皮肤点刺法组, 免疫印迹法组患者治疗前抽取静脉血进行免疫印迹法过敏原检测, 皮肤点刺法组患者治疗前实施皮肤点刺法试验进行过敏原检测。结果 免疫印迹法组检测的过敏原阳性率 70.3%, 而皮肤点刺法组检测的过敏原阳性率 56.8%。免疫印迹法组的过敏原阳性率高于皮肤点刺法组, 两者比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 对于过敏性皮肤疾病的过敏原检测, 免疫印迹法在过敏原的筛选及其顺应性等方面要优于皮肤点刺试验。

关键词:免疫印迹法; 点刺试验; 过敏性皮肤疾病; 过敏原

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2016.04.011

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2016)04-0459-03

Comparative study on two kinds of allergen detection methods for allergic skin diseases

Jiang Zuiming, Tang Manling, Gu Min, Luo Wenhui

(Clinical Laboratory Center, Zhuzhou Central Hospital, Zhuzhou, Hunan 412000, China)

Abstract: Objective To investigate the clinical effect of different detection methods in the detection of allergens in allergic skin diseases. Methods Choose 74 cases of allergic skin disease patients in our hospital from March 2014 to March 2015 as the research object, they were divided into two groups by random number method, immunoblotting group and skin prick test group, detected allergens of the two groups by immunoblotting and skin prick test before treatment. Results The positive rate was 70.3% in immunoblotting group, and the positive rate was 56.8% in skin prick test group. For allergens detection, the positive rate was higher by using immunoblotting, the differences between the two had significant difference ($P < 0.05$). Conclusion Immunoblotting is better than the skin prick test for allergen detection in allergic skin diseases.

Key words: immunoblotting; skin prick test; allergic skin disease; allergen

过敏性皮肤病是皮肤科最常见的疾病, 其病因复杂, 迁延反复, 在治疗中往往难以取得较满意的疗效。接触过敏原与过敏性皮肤病的发生具有密切的关系, 致敏原靶细胞作用在皮肤, 而致敏原到达机体以后和皮内靶细胞融合而导致的生物反应, 则会导致发生过敏性皮炎、荨麻疹与湿疹等过敏性皮肤病^[1]。因此在临床中, 及时检测过敏原对于过敏性疾病的预防与诊治具备着至关重要的作用^[2]。本研究中选择本院 2014 年 3 月至 2015 年 3 月门诊及住院病房收治的 74 例过敏性皮肤疾病患者作为研究对象, 通过对比皮肤点刺试验和免疫印迹法两种不同的过敏原检测方法, 以探讨分析不同检测方法应用在过敏性皮肤疾病过敏原检测中的临床效果以及相关比较, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择本院 2014 年 3 月至 2015 年 3 月门诊及住院病房收治的 74 例过敏性皮肤疾病患者作为研究对象, 通过随机数字法把全部患者分成皮肤点刺法组与免疫印迹法组, 每组 37 例患者, 在免疫印迹法组中, 男性患者 19 例, 女性患者 18 例, 年龄 5~60 岁, 平均(26.9±2.9)岁, 其中过敏性皮炎患者 4 例, 慢性荨麻疹患者 20 例, 湿疹患者 13 例; 而皮肤点刺法组中, 男性患者 20 例, 女性患者 17 例, 年龄 6~61 岁, 平均(27.8±3.1)岁, 其中过敏性皮炎患者 4 例, 慢性荨麻疹患者 20 例, 湿疹患者 13 例。全部患者的性别与年龄等基本临床资料比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$), 具有可比性。

1.2 仪器与试剂 免疫印迹法组选择过敏原特异性 IgE 抗体检测试剂盒, 由德国 MEDIWISS, Analytic, GmbH 公司生产(批号为 K-150317)。仪器有过敏原检测仪、搅拌器、洗瓶、避光孵育箱、水平混匀器等。皮肤点刺法组试剂选择德国默克集团 Allergro-pharma 标准化变应原(阿罗格)变应原试剂盒, 变应原点刺液包括组胺(阳性对照液)、生理盐水(阴性对照液)、屋尘螨、牛奶、鸡蛋等^[3]。选取的过敏原主要有户尘螨、屋尘螨、狗毛皮屑、猫毛皮屑、蟑螂、烟曲、桑树、蒿、柳、虾、蟹、贝、牛肉、牛奶、芒果、鸡蛋等 16 种过敏原, 其中 8 种为常见吸入性过敏原, 8 种为常见食入性过敏原。

1.3 方法 皮肤点刺法组患者实施皮肤点刺试验。点刺试验是将少量高度纯化的变应原液体滴于患者前臂, 手持一次性消毒点刺针与前臂成 90°角, 快速穿过滴在皮肤上的变应原提取液刺入表皮, 以不出血为度, 停留 1 s 后拔出。每种点刺液用一个新的点刺针, 2~3 min 后拭去残留液滴。擦拭时宜用消毒棉签轻轻吸干药液, 切勿向其他点刺点方向擦拭, 以免过敏原点刺液混合, 造成假阳性结果。如患者对该过敏原过敏, 则会于 15 min 内在点刺部位出现类似蚊虫叮咬的红肿快, 或者颜色上有改变。该方法采用组胺作阳性对照, 以计算相应的反应强度^[4]。而免疫印迹法患者取静脉血采用免疫印迹法检测。免疫印迹法是将静脉血中特异性过敏原吸附于硝酸纤维素膜表面, 置于反应槽中, 用移液器加入一定量的患者血清后室温下孵育, 标本中过敏原特异性的 IgE 抗体就会与过敏原发生反

应,并结合到硝酸纤维素膜上,待反应一段时间后,洗净多余的抗体,同时加入生物素标记的抗人 IgE 抗体,该抗体已有生物素标记。继续室温下孵育,洗脱未结合上的抗体,然后加上碱性磷酸酶标记的链霉亲和素,继续孵育,待结合完成后,重复清洗环节,再加入底物,使其与底物作用,孵育完成后,会出现特定的酶显色反应,显色沉淀会反应在试剂条上,颜色深浅与血清中 sIgE 抗体水平成正比,待试剂条干燥后,在专用阅读仪上读出结果。所有操作均按说明书要求严格执行。

1.4 观察指标与评定标准 皮肤点刺试验根据变应原点刺液及阳性对照所致风团面积之比判定反应级别。变应原风团直径与阴性相同为(-),变应原风团直径为组胺风团直径的 1/4 判定(+),变应原风团直径为组胺风团直径的 1/2 判定(++) ,变应原风团直径为组胺风团直径(+++),变应原风团直径为组胺风团直径的 2 倍判定(++++)^[5]。而免疫印迹法是通过计算显色条的面积积分与内标准曲线对比进行分级,从低到高依次分为 0 级、1 级、2 级、3 级、4 级、5 级、6 级共 7 个等级,0 级:无(0.00~0.34 IU/mL);1 级:低(0.35~0.69 IU/mL);2 级:增加(0.70~3.49 IU/mL);3 级:显著增加(3.50~17.49 IU/mL);4 级:高(17.50~49.90 IU/mL);5 级:较高(50.00~100.00 IU/mL);6 级:极高(>100.00 IU/mL)。0~1 级为阴性,2~6 级为阳性。

1.5 统计学处理 本研究采用统计学 SPSS17.0 对两组患者的基本临床数据实施处理与统计,采取 χ^2 检验对计数资料进行比较,采用 *t* 检验对计量资料进行比较, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组过敏原阳性率比较 两组过敏性皮肤疾病患者经过过敏原检测后,对两组的过敏原阳性率进行分析统计,其中免疫印迹法组的阳性率 70.3%,而皮肤点刺法组阳性率 56.8%,两组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.2 两组主要过敏原检测结果比较 两组主要过敏原检测结果比较发现,食入性过敏原中除牛奶外,其余免疫印迹法组过敏原检测的阳性率高于皮肤点刺法组。在吸入性过敏原中,只有屋尘螨和户尘螨两种过敏原检测的阳性率比较差异无统计学意义($P > 0.05$),其余免疫印迹法组过敏原检测的阳性率高于皮肤点刺法组,两组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 两组主要过敏原检测的阳性率比较[n(%)]

过敏原类型	免疫印迹法组(n=37)	皮肤点刺法组(n=37)	P
户尘螨	12(32.4)	11(29.7)	>0.05
屋尘螨	18(48.6)	19(51.4)	>0.05
狗毛皮屑	6(16.2)	3(8.1)	<0.05
猫毛皮屑	4(10.8)	1(2.7)	<0.05
蟑螂	5(13.5)	2(5.4)	<0.05
烟曲	8(21.6)	4(10.8)	<0.05
桑树	6(16.2)	2(5.4)	<0.05
蒿	3(8.1)	1(2.7)	<0.05
柳	7(18.9)	3(8.1)	<0.05
虾	4(10.8)	1(2.7)	<0.05
蟹	6(16.2)	2(5.4)	<0.05

续表 1 两组主要过敏原检测的阳性率比较[n(%)]

过敏原类型	免疫印迹法组(n=37)	皮肤点刺法组(n=37)	P
贝	3(8.1)	1(2.7)	<0.05
牛肉	5(13.5)	2(5.4)	<0.05
牛奶	4(10.8)	3(8.1)	>0.05
芒果	6(16.2)	3(8.1)	<0.05
鸡蛋	8(21.6)	3(8.1)	<0.05

3 讨论

过敏性皮肤疾病还可以称之为变态反应性疾病,其一般是由致敏原侵入机体以后发生异常而导致的疾病,是一种因为内在因素过敏体质,外在因素过敏原的作用与诱发下而致使不同细胞下致敏原靶细胞的发病^[6]。近年来,随着大气及环境污染和食物添加剂等的广泛应用,过敏性皮肤疾病的人群逐年扩大,其发病率也呈现出了一定的增长趋势。对相关临床数据分析发现,其中大多数患者具有过敏史^[7]。病情常反复发作和迁延不愈,但病因却难以明确,因此探寻过敏皮肤病的病因,明确可导致过敏性皮肤病的主要过敏原,了解接触吸入性过敏原与发生过敏性皮肤病之间的关系已经成为临床皮肤科领域研究的热点问题^[8]。目前临床上过敏原的检测方法很多,大致可分为体内和体外两种试验。体内检查主要有皮内试验、点刺试验、斑贴试验、激发试验等,体外检测有酶联免疫吸附试验(ELISA)、点酶联免疫吸附试验(Dot-ELISA)、放射性过敏原吸附试验(RAST)、免疫印迹法检测总 IgE(tIgE)以及特异性 IgE(sIgE)等。本研究中是分别选取体内检测中的皮肤点刺试验及体外检测中免疫印迹法检测特异性 IgE 抗体。两组患者经过临床过敏原检测后,结果显示免疫印迹法组的阳性率为 70.3%,而皮肤点刺法组的阳性率为 56.8%,免疫印迹法组的过敏原阳性检测率较皮肤点刺法组高。而在对两组患者进行食入性过敏原和吸入性过敏原的检测结果分析时也发现,免疫印迹法组的大部分过敏原阳性率要高于皮肤点刺法组,两者比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。两种检测方法各有利弊。皮肤点刺试验目前临床上应用广泛,其优点主要是操作简单、快捷、安全,不需特殊仪器,不受环境的局限,可根据临床的需要,随时测试各种变应原,而且经济实惠。但在试验过程中,一旦操作不慎,针尖会刺入过深,会加剧患者,尤其是儿童患者的恐惧感,甚至终止试验。且过敏原种类偏少,不能很好地满足临床的需求。而免疫印迹法检测总 IgE(tIgE)以及特异性 IgE(sIgE),虽然需要静脉抽血,操作繁琐,检测时间长,且费用比较昂贵,但因其痛苦小、特异度高、顺应性好,且含有更多的过敏原种类,能更好、更准确地找出过敏性皮肤患者的致病病因,可以更好地服务于临床。

综上所述,两种过敏原检测方法各有利弊。免疫印迹法由于包含众多的过敏原试剂种类,比较容易对过敏原进行筛选,且患者具有较好的顺应性,故对于过敏性皮肤疾病的过敏原检测,免疫印迹法要优于皮肤点刺法试验。

参考文献

- 王兰,李东宁,孙健,等. 特异性皮炎常见食物过敏原的特异性斑贴试验结果分析[J]. 中国皮肤性病学杂志, 2014, 10(22): 32-35.
- 姚叶林,何英爱. 过敏原体外检测 1 598 例变应(下转第 462 页)

续表 1 糖尿病足感染菌的分布

病原菌	株数(n)	构成比(%)
粪肠球菌	8	9.5
链球菌	7	8.3
微球菌属	1	1.2
杆菌类	21	25.0
变形杆菌	8	9.5
大肠埃希菌	6	7.1
假单胞菌属	5	6.0
肺炎克雷伯菌	2	2.4
真菌类	5	6.0
白色假丝酵母菌	5	6.0
厌氧菌	17	20.2
脆弱类杆菌	7	8.3
产黑色素拟杆菌	4	4.8
迟缓真杆菌	3	3.6
细小韦荣球菌	2	2.4
产气荚膜梭菌	1	1.2
合计	84	100.0

3 讨论

糖尿病患者由于代谢紊乱而处于免疫妥协状态,易感染不易控制。本研究发现糖尿病足混合感染较为常见,尤其是 Wagner 分级大于或等于 3 级糖尿病患者(83.3%),这可能与糖尿病足部感染的特征有关,血糖升高,溃疡处组织形成有利于细菌生长的环境,同时高血糖使免疫功能下降,致使患者在一般情况下更易发生感染,而感染有时患者免疫力进一步下降,进而出现混合感染和条件致病菌感染^[3],而在糖尿病足溃疡创口较深和坏疽时组织容易缺血缺氧,有利于厌氧菌的生长。

根据本医院送检的糖尿病足溃疡标本细菌培养结果可以看出,尽管糖尿病足感染的病原菌中以需氧菌为主,与有关报告一致^[4-5],但是厌氧菌的感染已达到 17 例,占病原菌的 20.23%,并且单纯的厌氧菌感染也有 6 例。如果临床上只将标本进行普通细菌培养,而忽略了厌氧培养,就有可能有大约

20%的病例被误诊或漏诊,患者将无法得到最有效的治疗,以致延误病情。如果厌氧培养能和普通培养同时进行,就可以为临床提供更有力的依据,减少临床用药的盲目性。厌氧菌培养未被列入细菌常规检验的原因,除了国内医学界对厌氧菌感染的普遍性和重要性未充分了解及重视外^[6],还有一个重要原因是厌氧菌培养操作麻烦,培养周期长,影响因素多,对采样标本要求严,培养环境特殊,这些都会影响厌氧菌培养的常规开展。本研究中有部分患者标本细菌涂片阳性,未培养出任何细菌,包括厌氧菌,原因第一可能是患者在做细菌培养前已经使用了大量抗菌药物;第二可能是采集和运送标本过程中未注意隔绝空气,而导致厌氧菌迅速地死亡。因此,能不能正确地采集并运送标本也严重影响着厌氧菌培养的阳性率。不过,也有厌氧培养是阳性,而耐氧试验显示又不是厌氧菌。所以,在厌氧菌的培养过程中,一定要严格遵守操作规程,对可疑标本进行多次培养,提高阳性率和正确率。由于厌氧菌培养鉴定周期长,影响临床医生的诊断与用药,为缩短报告时间,及时给临床提供依据,本实验室建议实行分阶段报告制度,第一阶段可以先根据耐氧试验结果、革兰染色、菌落特征等做出有厌氧菌生长等待鉴定的初步报告供临床参考;第二阶段再根据操作规程做出最后鉴定,并及时报告培养结果。

参考文献

[1] Imran S, Ali R, Mahboob G. Frequency of lower extremity amputation in diabetics with reference to glycemic control and Wagner's grades[J]. J Coll Physicians Surg Pak, 2006, 16(2): 124-127.
 [2] 许樟荣. 糖尿病足病变诊断和治疗[J]. 中国糖尿病杂志, 2001, 9(3): 180-183.
 [3] 邓家德, 李红玉, 陈惠玲, 等. 糖尿病足溃疡处常见病原菌分布与耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2005, 15(8): 955-957.
 [4] 常宝成, 潘从清, 曾淑范. 208 例糖尿病足流行病学及临床特点分析[J]. 中华糖尿病杂志, 2005, 13(2): 129-130.
 [5] 楼大钧, 朱麒麟, 金华伟, 等. 糖尿病足感染病原菌特点及药敏性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2009, 19(11): 1458-1460.
 [6] 冯忠盈, 吉建. 颈深部间隙感染厌氧菌分离鉴定的临床意义[J]. 检验医学与临床, 2008, 9(18): 1113-1114.

(收稿日期: 2015-10-15)

(上接第 460 页)

性疾病患者血清 IgE 的研究[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(5): 1221-1222.
 [3] Du H, Yang W, Xing W, et al. Parallel detection and quantification using nine immunoassays in a protein microarray for drug from serum samples[J]. Biomed Microdevices, 2005, 7(2): 143-146.
 [4] 李健康, 邝红萍, 康贝贝, 等. 常见呼吸系统变态反应性疾病皮肤点刺试验结果分析[J]. 河南医学研究, 2014, 15(4): 125-126.
 [5] 史玲艾, 安淑华, 袁洁, 等. 石家庄地区过敏性鼻炎患儿皮肤点刺试验结果分析与护理[J]. 护理实践与研究, 2010, 7(24): 15-17.

[6] Yegneswaran S, Fernández JA, Griffin JH, et al. Factor Va increases the affinity of factor Xa for prothrombin: a binding study using a novel photoactivable thiol-specific fluorescent probe[J]. Chem Biol, 2002, 9(4): 485-494.
 [7] 张燕, 史学娟. 808 例变态反应性疾病敏筛过敏原检测结果分析[J]. 重庆医学, 2013, 42(10): 1142-1145.
 [8] 张蕊娜, 许颖, 段晓涵, 等. 过敏性皮肤病 1774 例过敏原检测结果分析[J]. 中国皮肤性病学杂志, 2012, 26(4): 317-318.

(收稿日期: 2015-10-18)