

论著 • 临床研究

儿童过敏原特异性抗体 IgE 和 IgG 检测结果分析

胡立新, 宋文琪[△]

(首都医科大学附属北京儿童医院检验中心, 北京 100045)

摘要:目的 研究儿童血清特异性抗体 IgE(sIgE)和 sIgG 检测的意义,为临床诊断及治疗提供指导。方法 分别使用免疫印迹法(Western blot)和间接酶联免疫吸附法(ELISA)对 12 191 例患儿血清中的特异性过敏原 IgE 和 IgG 进行检测分析。结果 食入性 IgE 以牛奶的阳性率为最高(11.62%),其次是腰果(10.81%)和鸡蛋白(7.96%);食入性 IgG 以鸡蛋的阳性率为最高(68.44%),其次是牛奶(61.44%)和小麦(29.86%);联合检测同种食入类过敏原 IgG 的阳性率明显高于 IgE 的阳性率,差异有统计学意义($P<0.05$)。吸入性 IgE 以狗毛皮屑的阳性率为最高(11.62%),其次是真菌类(8.30%)和猫毛皮屑(7.62%)。结论 联合检测食物中特异性 IgE 和 IgG 抗体对儿童食物性过敏原引起的过敏性疾病的诊断和治疗具有重要意义。

关键词:过敏原; 过敏性疾病; 间接酶联免疫吸附法; 特异性抗体 IgE; 特异性抗体 IgG

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.20.021 **中图法分类号:**R446.6,R593.1

文章编号:1673-4130(2019)20-2518-04 **文献标识码:**A

Analysis of IgE and IgG test results of allergen-specific antibodies in children

HU Lixin, SONG Wenqi[△]

(Department of Clinical Laboratory, Beijing Children's Hospital Capital Medical University, Beijing 100045, China)

Abstract: Objective To study the significance of serum specific antibodies IgE (sIgE) and IgG (sIgG) in children, and to provide guidance for clinical diagnosis and treatment. **Methods** The specific allergens IgE and IgG in serum of 12 191 children were detected by Western blot and indirect enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Results** The highest positive rate of ingestive IgE was milk (11.62%), followed by cashew nut (10.81%) and chicken protein (7.96%); the highest positive rate of ingestive IgG was eggs (68.44%), followed by milk (61.44%) and wheat (29.86%); the positive rate of ingestive allergen IgG was significantly higher than that of IgE positive ($P<0.05$). The highest positive rate of inhaled IgE was dog dander (11.62%), followed by fungi (8.30%) and cat dander (7.62%). **Conclusion** The combined detection of specific IgE and IgG antibodies in food is of great significance in the diagnosis and treatment of allergic diseases caused by food allergens in children.

Key words: allergens; allergic diseases; indirect enzyme-linked immunosorbent assay; specific antibodies IgE; specific antibodies IgG

随着我国经济的发展,我国的环境污染问题日益加重,儿童中过敏性疾病逐渐频繁出现,因此过敏性疾病尤其是儿童中的过敏性疾病逐渐成为我国重点防治的疾病^[1-2]。血清中的特异性 IgE 导致速发型变态反应,而 IgG 介导的迟发性变态反应发病迟缓,通常与食物过敏密切相关。为了探讨哪种抗体的作用占主导地位,本文检测了一些患儿血清中的 IgE 和 IgG 抗体,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2012 年 10 月至 2016 年 6 月 12 191 例来首都医科大学附属北京儿童医院就诊的门诊或住院患儿,其中男 7 764 例,女 4 427 例,年龄

为 19 d 至 17 岁。每位患儿空腹抽取 2 mL 不抗凝静脉血液,分离血清后放于 4℃ 冰箱中保存直至检测。临床表现为长期咳嗽(大于 2 周)4 876 例、过敏性紫癜 3 779 例、荨麻疹 4 267 例、湿疹 5 522 例、过敏性鼻炎 4 013 例、上呼吸道感染 4 644 例、腹胀 5 031 例、便秘 5 901 例、其他 1 213 例。

1.2 检测方法

1.2.1 IgE 抗体检测 IgE 抗体检测是采用德国敏筛定量过敏原检测系统(德国 MEDIWISS 公司)。采用免疫印迹方法(Western blot)检测患儿血清中包含的 19 类常见过敏原 IgE 抗体浓度,包括 9 种食入性过敏原以及 10 种吸入性过敏原。检测原理如下:标

作者简介:胡立新,女,主管技师,主要从事临床检验诊断学方面的研究。 [△] 通信作者, E-mail: songwenqi1218@163.com。

本文引用格式:胡立新,宋文琪. 儿童过敏原特异性抗体 IgE 和 IgG 检测结果分析[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(20): 2518-2521.

本中过敏原特异性 IgE 抗体与吸附在硝酸纤维素膜上的过敏原发生抗原抗体特异性反应,形成抗原抗体复合物,标记了生物素的抗人 IgE 抗体与抗原抗体复合物反应,结合有碱性磷酸酶的链霉亲和素,生物素结合。碱性磷酸酶与底物 BCIP/NBT 发生特定的酶显色反应。颜色深浅与血清中特异性抗体 IgE(sIgE) 抗体含量成正比。严格按照试剂盒说明书进行操作。操作步骤如下:(1)试剂盒系统恢复至室温。(2)蒸馏水稀释洗脱液。(3)清洗液湿润纤维素膜,在检测板上加 250 μ L 血清样本,混匀并室温孵育 45 min。(4)清洗液冲洗膜条 3 次。(5)加入 250 μ L 抗体,混匀并室温孵育 45 min。(6)冲洗同步骤 4。(7)加 250 μ L 链霉素亲和素标记物,混匀并室温孵育 20 min。(8)冲洗同步骤 4。(9)加 250 μ L 底物,混匀并室温孵育 20 min。(10)终止底物酶反应。(11)干燥并用专用阅读器读数。(12)检测时均需做阴阳性质控对照。按照 IgE 检测结果的浓度分为 0~6 这 7 个不同等级,依次对应不同的浓度,浓度越高等级越高。其中 0 级为<0.35 kU/L;1 级为 0.35~0.7 kU/L;2 级为 0.7~3.5 kU/L;3 级为 3.5~17.5 kU/L;4 级为 17.5~50 kU/L;5 级为 50~100 kU/L;6 级为>100 kU/L;0 级为阴性不敏感;1~3 级为轻中度敏感;4~6 级为重度敏感。

1.2.2 IgG 抗体检测 IgG 抗体检测试剂盒是由美国 BIOMERICA 公司生产。采用间接酶联免疫吸附试验(ELISA)检测患儿血清中包含的 14 种常见食物过敏原 IgG 抗体浓度。检测原理如下:微孔板的反应孔内分别包被有抗原。标本中的特异性抗体与抗原反应。清洗微孔板后去除反应过剩的血清蛋白。加入酶标记的抗体结合液,同抗原-抗体复合物反应。再

加入偶联酶的生色底物,发生显色反应。测定反应产物的吸光度值,该值与食物特异性 IgG 抗体浓度呈正比。严格按照试剂盒说明书进行操作。操作步骤如下:(1)制备清洗液和底物液。(2)制备绘制标准曲线(50、100、200、400 U/mL)。(3)将 100 μ L 稀释 100 倍的患者血清加入到反应孔内。(4)封闭微孔板,置室温(22~25 $^{\circ}$ C)孵育 1 h。(5)用 300 μ L 工作清洗液清洗每个反应孔,需清洗 3 次。(6)反应孔中加入 100 μ L 抗人 IgG 抗体-辣根过氧化物酶结合液。(7)室温(22~25 $^{\circ}$ C)孵育 30 min。(8)重复步骤 5 清洗微孔板。(9)反应孔中加入 100 μ L 工作底物混合液。(10)封闭微孔板,置室温(22~25 $^{\circ}$ C)孵育 10 min。(11)反应孔中加入 50 μ L 终止液。(12)用酶标仪测定每孔在 450 nm 处的吸光度值。(13)检测时均需作阴阳性质控对照。按照 IgG 检测结果的浓度分为 0~3 级这 4 个不同等级,依次对应不同的浓度,浓度越高等级越高。其中 0 级为浓度 \leq 50 U/mL,阴性;1 级为 50 U/mL<浓度 \leq 100 U/mL,轻度敏感;2 级为 100 U/mL<浓度 \leq 200 U/mL,中度敏感;3 级为浓度>200 U/mL,高度敏感。

1.3 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件对研究检测的结果进行统计学分析,计数资料采用 $\bar{x} \pm s$ 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 血清中 IgE 抗体检测结果 血清中 IgE 抗体其中吸入性以狗毛皮屑的阳性率为最高 1 418 例(11.62%),其次是真菌类 1 012 例(8.30%)和猫毛皮屑 929 例(7.62%);食入性以牛奶的阳性率为最高 1 418 例(11.62%),其次是腰果 1 118 例(10.81%)和鸡蛋白 971 例(7.96%)。见表 1、2。

表 1 吸入性过敏原特异性 IgE 检测结果[n(%)]

浓度 分级	矮豚草、蒿、 菵草、藜	柏、榆、柳、栎、桦、枫、 胡桃、梧桐、杨	点青、分枝、烟曲、 黑曲、交链霉	狗毛皮屑	户尘螨	猫毛皮屑	桑树	屋尘	苋	蟑螂
1 级	57(0.55)	172(1.66)	181(1.48)	477(3.91)	251(2.06)	219(1.80)	59(0.48)	177(1.45)	80(0.77)	79(0.65)
2 级	124(1.20)	167(1.61)	371(3.04)	647(5.30)	293(2.40)	400(3.28)	71(0.58)	170(1.39)	85(0.82)	56(0.46)
3 级	117(1.13)	35(0.34)	346(2.84)	79(0.65)	233(1.91)	206(1.69)	25(0.21)	43(0.35)	35(0.34)	15(0.10)
4~6 级	93(0.90)	11(0.11)	114(0.93)	3(0.02)	130(1.07)	104(0.85)	1(0.00)	6(0.05)	6(0.06)	0(0.00)
合计	391(3.78)	385(3.72)	1 012(8.30)	1 206(9.89)	907(7.44)	929(7.62)	156(1.23)	396(3.25)	206(1.99)	150(1.23)

表 2 食入性过敏原特异性 IgE 检测结果[n(%)]

浓度分级	贝	菠萝	鸡蛋白	芒果	牛奶	牛肉	虾	蟹	腰果
1 级	50(0.41)	52(0.43)	425(3.49)	92(0.67)	687(5.63)	235(1.92)	57(0.47)	129(1.06)	457(4.42)
2 级	3(0.02)	24(0.20)	356(2.92)	83(0.68)	639(5.24)	79(0.65)	40(0.33)	98(0.80)	405(3.91)
3 级	0(0.00)	0(0.00)	132(1.08)	18(0.15)	82(0.67)	0(0.00)	18(0.15)	39(0.32)	179(1.73)
4~6 级	0(0.00)	0(0.00)	58(0.48)	3(0.02)	10(0.08)	0(0.00)	11(0.09)	24(0.17)	77(0.74)
合计	53(0.43)	76(0.62)	971(7.96)	196(1.61)	1 418(11.62)	314(2.58)	126(1.03)	290(2.38)	1 118(10.81)

2.2 血清中 IgG 抗体检测结果 血清中 IgG 抗体其中以鸡蛋的阳性率为最高 8 388 例(68.44%),其次是牛奶 7 529 例(61.44%)和小麦 3 657 例(29.86%)。见表 3。

表 3 食入性过敏原特异性 IgG 检测结果[n(%)]				
项目	+1	+2	+3	合计
大豆	1 882(15.36)	605(4.94)	382(3.12)	2 869(23.41)
大米	1 531(12.50)	447(3.65)	256(2.09)	2 234(18.24)
鸡蛋	1 767(14.42)	1 502(12.26)	5 119(41.77)	8 388(68.44)
鸡肉	852(6.96)	172(1.40)	78(0.64)	1 102(9.00)
蘑菇	301(2.46)	92(0.75)	93(0.76)	486(3.97)
牛奶	2 114(17.25)	1 733(14.14)	3 682(30.05)	7 529(61.44)
牛肉	334(2.73)	79(0.64)	43(0.35)	456(3.72)
螃蟹	638(5.21)	102(0.83)	46(0.38)	786(6.42)
西红柿	2 028(16.55)	868(7.08)	751(6.13)	3 647(29.76)
虾	728(5.94)	132(1.08)	78(0.64)	938(7.65)
小麦	2 045(16.70)	898(7.33)	714(5.83)	3 657(29.86)
鳕鱼	1 293(10.56)	372(3.04)	218(1.78)	1 883(15.37)
玉米	1 086(8.86)	254(2.07)	147(1.20)	1 487(12.13)
猪肉	490(4.00)	97(0.79)	56(0.46)	643(5.25)

2.3 联合检测同种食入类的 IgE 和 IgG 检测阳性率的比较 由于方法学原因,目前本院开展的吸入类过敏原没有 IgG 检测项目,因此,本文只针对同种食入类的 IgE 和 IgG 检测结果进行比较分析。在 12 191 例患儿中,检验食物过敏原 IgE 的阳性率明显低于 IgG,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 4。

表 4 联合检测同种食入类过敏原特异性 IgE 和 IgG 阳性率检测结果比较(n)					
过敏原	IgE 阳性	IgE 阳性	IgE 阴性	IgE 阴性	P
	IgG 阴性	IgG 阳性	IgG 阳性	IgG 阴性	
鸡蛋	291	680	7 708	3 803	0.013
牛奶	316	1 102	6 427	4 662	0.035
虾	42	84	854	11 253	0.000
蟹	100	190	596	11 901	0.001
牛肉	105	209	247	11 735	0.002

3 讨 论

过敏反应是人体免疫系统对某些抗原初次应答后,再次接受相同抗原刺激时,产生的一种生理功能紊乱或组织细胞损伤为主的特殊的免疫反应。过敏原是通过吸入、食入或接触等方式进入人体,刺激免疫细胞产生具有药理活性的物质,从而表现出过敏症状。这类能通过各种途径引发过敏反应的物质统称为过敏原^[3-4]。常见的食入性过敏原有牛奶、鸡蛋、虾、蟹、大豆及小麦等;吸入性的过敏原有花粉、尘螨、动物皮毛、真菌孢子等。

一直以来,对过敏原的检查方法主要是皮肤点刺试验、血清特异性 IgE 抗体测定、血清特异性 IgG 抗体测定。皮肤点刺试验由于其创伤性较大,因此在儿童的过敏原检测中不大适用。IgE 抗体介导的Ⅰ型过敏反应为速发型过敏反应,一般表现在接触过敏原后 2~48 h 内出现,且具有可重复出现性。血清中 IgE 抗体升高是引发过敏性疾病的重要原因,检测血清中特异性 IgE 类型与含量。是鉴别分析过敏原的主要方法。IgG 抗体介导的Ⅲ型过敏反应为迟发型过敏反应(Ⅳ型过敏反应有关),常于接触过敏原后数天甚至数月才出现。但一般症状无特异性,且不易察觉,目前机制尚未阐明。因此需要实验室检查来明确诊断^[5]。

本研究表明同时检测患儿的 IgE 和 IgG 抗体,发现食物过敏原是儿童过敏性疾病的重要诱因。但这两种方法的检测结果并不一致,IgG 的阳性率明显高于 IgE,并且主要的阳性食物也不尽相同。IgE 阳性率最高的是牛奶,其次是腰果和鸡蛋白;IgG 阳性率最高的是鸡蛋,其次是牛奶和小麦。两种不同方法检测食物中的鸡蛋和牛奶的阳性率均比较高,究其原因可能是由于:(1)鸡蛋和牛奶含有丰富的蛋白质是儿童、尤其是小年龄段儿童主要的食物来源,因此是导致儿童出现过敏性疾病最主要的食物诱因^[6-7]。(2)幼儿的胃肠道发育尚未健全,消化酶分泌不足以及消化道黏膜通透性较高,难以适应多种食物的消化吸收,许多食物蛋白质尚未分解便直接由肠道黏膜吸收,因此易造成变态反应。联合两种方法检测同种食入性 IgE 和 IgG 阳性率,IgE 的总阳性率为 11.62%,IgG 的总阳性率为 68.44%,差异有统计学意义($P<0.05$),这与马超等^[8]的研究结果不同,可能是和检测方法不同有关,有待于进一步研究。

吸入性过敏原同儿童过敏性疾病也有重要的关系。本研究发现,吸入性 IgE 以狗毛皮屑的阳性率为最高,其次是真菌类和猫毛皮屑。究其原因可能是由于现代家庭里饲养宠物的比较多,无法避免在家里出现宠物的毛皮屑。这些均是过敏原的来源,可导致儿童出现过敏性疾病。这和其他文献报道的阳性率和吸入种类有所差别,可能和试验方法的不同、变应原种类的选择及阳性观察标准的不统一有关^[9-13]。

食入性 IgG 抗体与过敏原 IgE 抗体检测结果分析,同种常见食入性 IgG 抗体阳性率最高的前两位是:鸡蛋(68.44%)和牛奶(61.44%);过敏原 IgE 抗体阳性率最高的前两位是:牛奶(11.62%)和鸡蛋(7.96%),说明上述两种抗体都是和儿童过敏相关的重要原因。过敏原 IgE 抗体的阳性率低于食入性 IgG 抗体的阳性率,这提示 IgE 抗体的检测不能替代食入性 IgG 抗体的检测。食入性 IgG 抗体的检测可以作为过敏原 IgE 抗体检测的强有力地补充^[14-15]。

引起儿童出现过敏性疾病的过敏原有很多,通常

会因为地理位置、环境及生活习惯不同而出现差异性,因此对其防治应考虑差异性。对于食入性过敏的患儿,应尽量避免食入过敏性的食物。一些儿童必需的食物,如牛奶、鸡蛋、小麦等,可采用少食或轮替的方法进食。对于吸入性过敏的患儿,家里应尽量不养宠物,保持室内的通风干燥,经常打扫卫生,勤洗并晾晒衣服和被褥。并可采用脱敏疗法减轻过敏症状和过敏性疾病的发作。

4 结 论

尽管目前对非特异性 IgE 介导的食物过敏反应的发病机制尚不完全清楚,但本研究中食源性过敏原 IgG 阳性率高于 IgE,说明食物可以通过不同途径引发过敏反应,提醒在临床诊疗时要注意 IgG 介导的迟发性过敏反应的可能。因此通过联合检测患儿血清中 IgE 和 IgG 抗体的水平,寻找可疑的过敏原,其阳性率高于单独检测一项的指标,有助于提高儿童过敏性疾病的诊断及治疗效率,具有重要的临床意义及指导作用。

参考文献

[1] HELLMIG S, TROCH K, OTT S J, et al. Yersinia enterocolitica; another factor in the pathogenesis of chronic urticaria? [J]. Clin Exp Dermatol, 2009, 34(7):292.

[2] MAN L C, CAN C, YAN H L, et al. Analysis of specific IgE level in 1,215 patients with allergic diseases in harbin, China[J]. Clin Lab, 2015, 61(7):819-824.

[3] 王润超,陈婷婷,陈少秀,等.儿童荨麻疹患者过敏原特异性 IgG 和 IgE 检测结果分析[J]. 中国麻风皮肤病杂志, 2016, 32(11):680-682.

[4] 刘晶,邹晓岩,尹金植,等.变应性哮喘患者过敏原特异性抗体检测与分析[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2012, 3(3):267-269.

[5] 马晓蕾,孙青苗,贾军,等.过敏性皮肤病患者血清食入性和吸入性过敏原特异性 IgE 结果分析[J]. 北京大学学报(医学版), 2012, 44(15):765-769.

[6] 陈静,廖艳,张红忠,等.三城市两岁以下儿童食物过敏原现状调查[J]. 中华儿科杂志, 2012, 50(1):5-9.

[7] 黄洁明,钟冕.食物不耐受检测意义及饮食指导的临床研究[J]. 重庆医学, 2015, 44(20):2835-2837.

[8] 马超,王伟,吴玉红.慢性荨麻疹患者过敏原特异性 IgE 与特异性 IgG 分析[J]. 安徽医学, 2014, 35(2):183-185.

[9] 谭宁,贺守第,倪慧婕,等.类风湿关节炎血清植物性食物过敏原特异性 IgG 和 IgE 检测[J]. 中华临床免疫和变态反应杂志, 2016, 10(2):97-100.

[10] IMANZADEH F, NASRI P, SADEGHI S, et al. Food allergy among Iranian children with inflammatory bowel disease: A preliminary report[J]. J Res Med Sci, 2015, 20(9):855-859.

[11] 易绘,梁亚勇,肖奕青,等.婴幼儿和儿童哮喘过敏原 IgE 检测及临床意义[J]. 中国免疫学杂志, 2019, 35(3):340-344.

[12] 苗青,刘永革,王燕,等.3 160 例住院儿童敏筛过敏原检测结果分析及其临床意义[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 7(39):1632-1637.

[13] 李波,胡海艳,郭文燕,等.万州地区 868 例儿童过敏原检测结果及意义分析[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 4(39):996-999.

[14] 刘树照.同时检测食物不耐受特异性 IgG 抗体和过敏原 IgE 抗体在儿童支气管哮喘中的价值探讨[J]. 中外医疗, 2017, 22(31):15-30.

[15] LAU C K, NAUGLER C. Serum allergen specific IgE testing: How much is too much[J]. Clev Clin J Med, 2016, 83(1):21-24.

(收稿日期:2019-02-24 修回日期:2019-05-08)

(上接第 2517 页)

[8] 陈海涛,兰建云,翁国武,等.宫颈上皮内瘤变组织中 HPV 型别分布情况分析[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(22):2778-2781.

[9] 岳钊平,赵小玲.女性宫颈疾病患者 HPV 分型检测结果分析[J]. 海南医学, 2018, 29(13):1836-1838.

[10] 胡静,卢娜.黄石市 620 例女性宫颈病变与宫颈 HPV 亚型分布关系分析[J]. 中国临床新医学, 2018, 11(4):372-375.

[11] 李茜,成丽虹,张薇.东莞莞城区育龄妇女 HPV 感染调查及亚型分布[J]. 右江民族医学院学报, 2015, 37(3):428-429.

[12] 陈娟文,徐文瑜,黎文清,等.湛江地区女性人乳头瘤病毒感染特征分布情况[J]. 中国初级卫生保健, 2017, 31

(4):28-29.

[13] 崔振远,张春华.2013—2015 年罗定市健康体检妇女子宫颈人乳头瘤病毒感染情况分析[J]. 黑龙江医学, 2016, 40(12):1128-1129.

[14] 赵丽辉,孙世珺,孟凤娇.中山市 4 508 例女性宫颈细胞 HPV 基因分型分析[J]. 现代预防医学, 2018, 45(22):4086-4088.

[15] 苏莉,于澎静,夏林.宫颈上皮内瘤变 I 与人类乳头状病毒病毒感染类型的关系[J]. 实用临床医药杂志, 2017, 21(21):52-54.

[16] 张珊珊,丁妹.宫颈癌前病变或 HPV 阳性危险因素流行病学调查研究[J]. 中国当代医药, 2018, 25(10):101-104.

(收稿日期:2019-03-14 修回日期:2019-05-26)