

### 3 讨 论

SMA 广泛存在于自然界,污水、自来水、土壤中,动物及人体内均有寄居,为重要的条件致病菌,可引起呼吸道、尿道、伤口感染、心内膜炎、中枢神经系统感染等,其中以下呼吸道感染率最高。本组结果显示 SMA 来自呼吸道的标本占 75.6%,与文献报道 63.3%~79.2%相似<sup>[1-3]</sup>,可能与该菌在人体内大部分正常寄居呼吸道有关。病区分布以外科居首位,其次为 ICU。患者年龄分布 60 岁以上占 83.3%,与文献[4-5]报道相似。提示施行各种侵入性检查和治疗以及抗菌药使用时间较长,患者年老体弱,抵抗力低下,易引起该菌感染。

本组药敏结果显示,SMA 对广谱青霉素类、碳青霉烯类、头孢类等抗菌药均有较高耐药率,除替卡西林/棒酸耐药率低于 50%外,其他 8 种药物耐药率在 64.1%~100.0%。该菌对  $\beta$ -内酰胺类抗菌药的高度耐药性是由于该菌可产生两种  $\beta$ -内酰胺酶:L1 金属酶和 L2 丝氨酸  $\beta$ -内酰胺酶。L1 既是青霉素酶,又是碳青霉烯酶,可水解青霉素类、头孢菌素类、碳青霉烯类抗菌药及  $\beta$ -内酰胺酶抑制剂;L2 为头孢菌素酶,主要水解头孢菌素类、单环头孢菌素类抗菌药<sup>[6]</sup>, $\beta$ -内酰胺酶抑制剂可抑制其活性。另外,L1 和 L2 均为染色体酶,存在于菌体内,均可被诱导。有文献报道 63%的 SMA 可产生诱导型  $\beta$ -内酰胺酶,而亚胺培南是一种很强的  $\beta$ -内酰胺酶诱导剂,因此,随着亚胺培南在临床上的广泛应用,该菌对青霉素类、头孢菌素类抗菌药的耐药性也明显升高,其对妥布霉素、阿米卡星、庆大霉素等氨基糖苷类药物耐药率高达 93.6%~100.0%,与文献[3]报道相似。对氨基糖苷类药物耐药主要是由于修饰酶的作用,能将氨基糖苷类抗菌药物游离氨基乙酰化,并将其游离羟基磷酸化、核苷化,由此导致抗菌药物失去活性。氨基糖苷类药物结构相似,故常出现明显的交叉耐药现象,因此临床上对该菌引起的感染不宜使用这类药物。该菌对氟喹诺酮类中的环丙沙星耐药率也高达 59.0%,这与临床上使用率较高有关。此外,该菌对喹诺酮类耐药除了外排泵和膜屏障外,还与靶位旋转酶 II 基因(*gyrA*、*gyrB*)和拓扑异构酶 IV 基因(*parC*、*parD*)的突变

有关。本文结果显示 SMA 对复方新诺明全部敏感,与张璞玉等<sup>[3]</sup>报道的敏感率 95.8%相近,而与文献[2,5,6]报道的 60.7%~75.0%稍有差异,这可能与本院临床较少使用该药有关。

总之,SMA 主要引起呼吸道感染,侵入性检查和治疗以及抗菌药物使用时间较长,患者年老体弱,抵抗力低下等,是该菌易感因素。SMA 对多种抗菌药物耐药状况十分严重,应该注意对该菌的耐药监测,同时对该菌引起的感染应结合药敏试验结果进行治疗,复方新诺明可作为首选药物,其次替卡西林/棒酸可作为联合用药时的选择。

### 参考文献

- [1] 孟峻,郭素芳,张永梅,等. 60 株嗜麦芽寡养单胞菌的临床分布与耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志,2009,19(23):3269-3271.
- [2] 王伟平,殷达荣,汪俊. 89 株嗜麦芽窄食单胞菌的临床分离率与耐药性分析[J]. 现代中西医结合杂志,2006,15(24):3398-3399.
- [3] 张璞玉,张少燕,李静,等. 嗜麦芽假单胞菌医院内感染特点及耐药分析[J]. 青岛大学医学院学报,2009,45(6):573-576.
- [4] 李艳,刘长庭,王德龙,等. 嗜麦芽寡养单胞菌所致医院感染及危险因素分析[J]. 中华医院感染学杂志 2007,17(9):1160-1162.
- [5] 曾军荣,李榕娇. 256 株嗜麦芽窄食单胞菌的耐药性分析[J]. 检验医学与临床,2009,6(18):1537-1542.
- [6] Avison MB, Higgins CS, Ford PJ. Differential regulation of L1 and L2 betalactamase expression in *Stenotrophomonas maltophilia* [J]. J Antimicrob Chemother, 2002, 44 (7): 1778-1783.

(收稿日期:2010-09-19)

### • 临床研究 •

## 免疫印迹法和 ELISA 检测过敏原结果比较

曾东良,姜焕好,庄洁伟,曹国磊,饶宗健(广东省深圳市宝安区人民医院 518101)

**【摘要】 目的** 对目前常用的两种测定过敏原的方法进行比较,找寻操作简便、成本低廉、安全可靠、易被患者接受的方法。**方法** 采用免疫印迹法和酶联免疫吸附试验(ELISA)测定过敏原。**结果** 通过对 159 例过敏性疾病患者的血清进行检测,发现两种方法对屋尘和肉类过敏原的测定结果存在一定差异,其他过敏原均无显著差异。**结论** 免疫印迹法和 ELISA 比较各有优缺点,因缺乏有关特异性 IgE 抗体和过敏原的国际标准,不同方法测得结果不一定一致,所以应注意不同方法的差异性和相关性。

**【关键词】** 变应原; 过敏反应; 免疫球蛋白 E; 免疫印迹法; 酶联免疫吸附测定

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.02.038 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2011)02-0195-02

目前在发达国家和地区,每 3 个人中就有一个患过敏性疾病,发展中国的发病率也在逐年增加,过敏性疾病已成为严重的世界性卫生问题<sup>[1]</sup>,需要进行过敏原检测的患者越来越多。本文对目前常用的两种测定过敏原的方法进行比较。

### 1 资料与方法

**1.1 实验对象** 选取 2010 年 3~5 月在本院就诊的 159 例过敏性疾病患者的血清标本进行检测,病种包括过敏性鼻炎 41 例,荨麻疹 89 例,支气管哮喘 24 例,其他过敏性疾病 5 例。临床诊断按照相应的国家标准。

### 1.2 检验方法

**1.2.1 免疫印迹法** 试剂由德国 Mediss 公司提供,选取华南地区组合,包括吸入组[户尘螨、屋尘、桑树、猫毛皮屑、狗毛皮屑、蟑螂、苜蓿、霉合(点青霉、分枝孢霉、烟曲霉、交链孢霉)、草粉组合(栎、榆、梧桐、柳、三角叶杨)、总 IgE]和食入组(鸡蛋白、牛奶、青贝、蟹、虾、牛肉、芒果、腰果、菠萝、总 IgE)。试剂室温放置 30 min 后,用清洗液湿润硝酸纤维素膜,然后加入 250  $\mu$ L 血清,在混匀器上室温孵育 45 min,用清洗液冲洗 5 次,加入 250  $\mu$ L 抗-抗体,在混匀器上室温孵育 45 min,冲洗,

加入 250  $\mu$ L 链霉亲和素标记物,孵育 20 min,冲洗,加入 250  $\mu$ L 底物,孵育 20 min,冲洗,终止底物酶反应,干燥后,用专用阅读仪测定。试验需时 3 h 左右。

**1.2.2 酶联免疫吸附试验(ELISA)**试剂由深圳博卡生物技术有限公司提供,包括吸入组[屋尘、粉尘螨、真菌(烟曲霉、链格孢、多立枝孢)、多价兽毛(猫毛、狗毛)、多价羽毛(鸡毛、鸭毛)、蟑螂(美洲大蠊、德国小蠊)、蛾翅、香烟、桑蚕丝、春季和夏秋季花粉、总 IgE]和食入组[牛奶、鸡蛋、海鲜(大闸蟹、基围虾)、淡水鱼(鲤鱼、草鱼、鳊鱼)、肉类(牛肉、羊肉、鸡肉、鸭肉)、花生和大豆、谷物(玉米、小麦)、芝麻、蔬菜(洋白菜)、调味品(葱、蒜)、总 IgE]。试剂室温放置 30 min,每孔加入 50  $\mu$ L 血清和 100  $\mu$ L 样品稀释液,37  $^{\circ}$ C 孵育 3 h,洗涤,加入生物素-抗人 IgE,37  $^{\circ}$ C 孵育 30 min,洗涤,加入 100  $\mu$ L 辣根过氧化物酶-链亲和素结合物,37  $^{\circ}$ C 孵育 30 min,洗涤,加入显色剂 A、B 液各 50  $\mu$ L,37  $^{\circ}$ C 孵育 10 min,加 50  $\mu$ L 终止液,酶标仪选择双波长 450 nm 和 630 nm 读取吸光度(OD)值,根据 OD 值差值的大小,应用配套软件判断特异性 IgE 和总 IgE 的级别。试验需时 5 h 左右。

**1.3 统计学方法** 采用  $\chi^2$  检验。

2 结 果

由于两种方法所测过敏原项目不是完全相同,本研究选择相同或相似的项目进行比较,吸入组包括屋尘、粉尘螨、真菌、兽毛、蟑螂、花粉组合,食入组包括牛奶、鸡蛋、海鲜、肉类、坚果类。

**2.1 两种方法阳性率** 免疫印迹法总 IgE 阳性率为 78.2%,吸入组阳性率前 3 位分别是户尘螨 54 例(34.0%)、屋尘 45 例(28.3%)、花粉组合 39 例(24.5%)。食入组阳性率前 3 位分别是海鲜 32 例(20.1%)、鸡蛋 26 例(16.4%)、肉类 21 例(13.2%)。

ELISA 总 IgE 阳性率为 80.4%,在吸入组阳性率前 3 位分别是户尘螨 51 例(32.1%)、花粉组合 41 例(25.8%)、屋尘 29 例(18.2%)。食入组前 3 位阳性率分别是海鲜 37 例(23.3%)、肉类 36 例(22.6%)、鸡蛋 28 例(17.6%)。

**2.2 两种方法结果比较** 见表 1。在结果中,两种方法检测屋尘与肉类的差异有统计学意义( $\chi^2 < 3.84, P < 0.05$ ),其余过敏原两种方法均无明显差异。

表 1 159 例标本两种方法的阳性结果比较[n(%)]

| 吸入组<br>过敏原 | 印迹法      | ELISA    | 食入组<br>过敏原 | 印迹法      | ELISA    |
|------------|----------|----------|------------|----------|----------|
| 户尘螨        | 54(34.0) | 51(32.1) | 海鲜         | 32(20.1) | 37(23.3) |
| 花粉组合       | 39(24.5) | 41(25.8) | 鸡蛋         | 26(16.4) | 28(17.6) |
| 屋尘*        | 45(28.3) | 29(18.2) | 肉类*        | 21(13.2) | 36(22.6) |
| 真菌         | 31(19.5) | 27(17.0) | 牛奶         | 18(11.3) | 15(9.4)  |
| 兽毛         | 24(15.1) | 26(16.3) | 坚果类        | 11(6.9)  | 13(8.2)  |
| 蟑螂         | 17(10.7) | 14(8.8)  | —          | —        | —        |

注:两种方法比较,\* $P < 0.05$ 。—表示无数据。

3 讨 论

**3.1 IgE 是过敏性疾病患者在接触过敏原时由浆细胞释放的特异性抗体,过敏性疾病寻找过敏原通常称为特异性诊断,即检测患者的特异性 IgE,对患者的特异性预防和治疗具有重要意义。特异性诊断分为体内试验和体外试验,体内试验常用方法是皮肤点刺试验(SPT),由于该试验的结果判断具有一定的主观性,某些严重过敏者还可能出现强烈过敏反应,具有一定风险,而且针刺给患者带来较多的痛楚,现在除了药敏试验外一般较少使用。而体外测试过敏原只需少量血清即可进行多**

**种特异性 IgE 检测,可定量或半定量,其敏感性和阳性率比皮肤试验高<sup>[2-3]</sup>,且受患者服药影响较小,对患者几乎无痛苦,尤其儿童患者更乐意接受。近年来用于过敏原检测的方法有荧光免疫酶技术(FEIA)、化学发光技术、免疫印迹和免疫层析、ELISA 等,前两种方法需要特殊设备,所需设备和试剂都比较昂贵。ELISA 和以免疫印迹原理为基础的半定量检测特异性 IgE 的方法,由于价格相对较低廉且能基本满足临床需要,现已广泛应用。**

**3.2 本文对目前临床上常用的两种方法进行了比较,两种方法的实验步骤都比较简单,ELISA 耗时较免疫印迹法长。在结果上,两种方法对屋尘与肉类测定结果差异较大,屋尘可能是两种方法采用的抗原组分复杂性不同所致,肉类印迹法用的是牛肉,而 ELISA 用的是多种肉类作抗原,因而造成结果差异较大,其余过敏原结果符合率较高。需要指出的是,目前各种过敏原检测时使用的抗原多为未加工食物提取物,而一些食品在处理过程中会使食物过敏性加强,这也是今后食入过敏原检测需要注意的问题<sup>[4]</sup>。**

**3.3 免疫印迹法采用的是德国 Mediawisswc 公司生产的 Allergy Screen 过敏原检测系统,该系统浓缩的过敏原未经过任何修饰地连接到硝酸纤维素膜上,并使用生物素-亲和素放大系统,使得微量的 IgE 亦可被检测到。该系统结果稳定,不需要昂贵仪器,目前在临床上使用较多。但目前临床上使用的印迹法检测系统多为外国进口,价格较贵,而且与我国同类过敏原抗原决定簇不一致,不符合我国人群的过敏原谱,检测患者对其不可能接触到的过敏原的敏感性,不仅无益于指导临床,还会增加患者负担<sup>[5]</sup>,值得临床考虑。ELISA 也是近年来在临床上使用较多的方法,而且已多为国产试剂。该方法采用生物素-抗生物素蛋白的放大,提高了检出特异性 IgE 的敏感性,且操作简单,成本低廉,全部抗原来自国内,更适合中国人的过敏原检测,不需要特殊设备。但该方法容易受交叉反应影响而导致检测结果呈假阳性,此方法的独立性还有待提高。**

**3.4 因为缺乏有关特异性 IgE 抗体和过敏原的国际标准,使用不同方法所得到的结果也不一定一致。因此使用时应注意不同方法的差异性和相关性,选择适合的方法进行过敏原检测,对过敏性疾病的预防和治疗有很大帮助。血清中过敏原特异性 IgE 水平仅能说明个体对已测过敏原的敏感性,不能仅依靠检测血清中的过敏原特异性 IgE 水平,还应结合患者临床病史和其他检测手段才能准确诊断过敏原<sup>[6]</sup>。**

参考文献

[1] Plebani M. Clinical value and measurement of specific IgE [J]. Clin Biochem, 2003, 36(6): 453-469.  
[2] 唐永华. 500 例变应性鼻炎变应原皮试结果分析[J]. 哈尔滨医药, 2004, 24(6): 30-31.  
[3] 张玲, 王茜, 解松刚. 扬州地区变态反应性疾病患者血清中体外过敏原检测与分析[J]. 检测医学与临床, 2010, 7(3): 197-198.  
[4] 王玉英, 宣艳萍, 李俊玲, 等. 吸入性与食入性过敏原检测结果观察[J]. 检验医学与临床, 2008, 5(3): 186-187.  
[5] Fromer LM. Clinical rationale for obtaining a precise diagnosis[J]. J Fam Pract, 2004, 53(Suppl): 4-14.  
[6] 丁敏, 史梅. 常州地区 600 例变态反应性疾病过敏原检测[J]. 临床和实验医学杂志, 2008, 7(12): 37-38.