

DOI: 10.16781/j.0258-879x.2018.01.0068

· 论 著 ·

## 纳米磁微粒化学发光免疫分析法检测过敏原特异性免疫球蛋白 E 性能评估

曾万杰<sup>1</sup>, 樊一笋<sup>1</sup>, 耿春松<sup>1</sup>, 赵虎<sup>2\*</sup>

1. 上海交通大学医学院附属苏州九龙医院检验科, 苏州 215023
2. 复旦大学附属华东医院检验科, 上海 200040

**[摘要]** **目的** 评估纳米磁微粒化学发光免疫分析法 (NM-CLIA) 检测屋尘螨 (国际过敏原代码 D1) 和粉尘螨 (国际过敏原代码 D2) 过敏原特异性免疫球蛋白 E (sIgE) 抗体的相关性能。**方法** 分别运用 NM-CLIA 和免疫荧光法检测 489 例在上海交通大学医学院附属苏州九龙医院就诊的疑似过敏患者的血清样本, 其中 D1 疑似过敏 244 例、D2 疑似过敏 245 例, 采用  $\chi^2$  检验和 *Kappa* 检验评价 2 种方法检测 D1 和 D2 sIgE 抗体的相关性。按照美国临床实验室标准化协会标准方法验证 NM-CLIA 检测 D1 和 D2 sIgE 抗体的最低检出限 (LoD)、线性范围和精密度等关键性能指标。**结果** NM-CLIA 检测 D1 和 D2 sIgE 抗体的 LoD 均小于 0.01 U/mL, 线性范围为 0.1~100 U/mL。批内精密度小于 5%, 批间精密度小于 8%。方法学比对结果表明, 与免疫荧光法相比, 屋尘螨过敏原的阳性符合率为 95%, 阴性符合率为 92%,  $\chi^2=174.45$ ,  $P<0.001$ , *Kappa*=0.843, 表明 NM-CLIA 检测屋尘螨过敏原与免疫荧光法有良好的一致性, 且  $\pm 1$  级符合率为 95.6%; 粉尘螨过敏原的阳性符合率为 91%, 阴性符合率为 97%,  $\chi^2=154.26$ ,  $P<0.001$ , *Kappa*=0.787, 表明 NM-CLIA 检测粉尘螨过敏原与免疫荧光法有良好的一致性, 且  $\pm 1$  级符合率为 94.2%。**结论** NM-CLIA 在检测 D1 和 D2 sIgE 抗体时与免疫荧光法有良好的相关性, 同时 NM-CLIA 的 LoD、线性范围和精密度性能优异, 可成为 D1 和 D2 sIgE 抗体临床检测方案的推荐方法。

**[关键词]** 磁性纳米微粒; 化学发光; 屋尘螨; 粉尘螨; 过敏原; 免疫球蛋白 E

**[中图分类号]** R 446.61 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2018)01-0068-06

### Performance of magnetic nanoparticle chemiluminescence immunoassay in detection of allergen-specific immunoglobulin E

ZENG Wan-jie<sup>1</sup>, FAN Yi-sun<sup>1</sup>, GENG Chun-song<sup>1</sup>, ZHAO Hu<sup>2\*</sup>

1. Department of Clinical Laboratory, Suzhou Kowloon Hospital, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Suzhou 215023, Jiangsu, China
2. Department of Clinical Laboratory, Huadong Hospital Affiliated to Fudan University, Shanghai 200040, China

**[Abstract]** **Objective** To evaluate the performance of magnetic nanoparticle chemiluminescence immunoassay (NM-CLIA) in detection of allergen-specific immunoglobulin E (sIgE) antibodies to *Dermatophagoides pteronyssinus* (International Allergen Code D1) and *Dermatophagoides farinae* (International Allergen Code D2). **Methods** A total of 489 serum samples from the patients with suspected allergic disease (244 cases caused by D1, and 245 caused by D2), who were treated at Suzhou Kowloon Hospital, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, were detected by NM-CLIA and immunofluorescence assay, respectively.  $\chi^2$  test and *Kappa* test were used to evaluate the correlation between the two methods in detection of D1 and D2 sIgE antibodies. The limit of detection (LoD), linear range and precision of NM-CLIA in detection of D1 and D2 sIgE antibodies were verified by the standard method of American Clinical Laboratory Standardization Association. **Results** The LoDs of NM-CLIA in detecting D1 and D2 sIgE antibodies were both less than 0.01 U/mL, the linearity ranged from 0.1 to 100 U/mL, the within-run precision was less than 5%, and the between-run precision was less than 8%. Methodological comparison results showed that NM-CLIA and immunofluorescence assay had good consistency in detecting D1 and D2 sIgE antibodies. For D1, the positive coincidence rate and negative coincidence rate were 95% and 92%, respectively ( $\chi^2=174.45$ ,  $P<0.001$ , *Kappa*=0.843), and the  $\pm 1$  class agreement was 95.6%; for D2, the positive coincidence

[收稿日期] 2017-08-15

[接受日期] 2017-11-07

[作者简介] 曾万杰, 主管技师. E-mail: zengwanjie139@163.com

\*通信作者 (Corresponding author). Tel: 021-62483180-20878, E-mail: hubertzhao@163.com

rate and negative coincidence rate were 91% and 97%, respectively ( $\chi^2=154.263$ ,  $P<0.001$ ,  $Kappa=0.787$ ), and the  $\pm 1$  class agreement was 94.2%. **Conclusion** NM-CLIA has good correlation with immunofluorescence assay in detecting D1 and D2 sIgE antibodies, and has good LoD, linear range and precision, suggesting that it can be recommended for clinical testing of D1 and D2 sIgE antibodies.

**[Key words]** magnetic nanoparticle; chemiluminescence; *Dermatophagoides pteronyssinus*; *Dermatophagoides farinae*; anaphylactogen; immunoglobulin E

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2018, 39(1): 68-73]

过敏性疾病又称变态反应性疾病,是指机体通过吸入、食入、注入或接触某种含有致敏成分的物质(过敏原或变应原)后触发机体产生过量的免疫球蛋白 E (immunoglobulin E, IgE),从而引起各种功能性障碍或组织损伤的一类疾病。过敏性疾病从新生儿到老年人的各个年龄阶段都可能发生,往往具有明显的遗传倾向。过敏性疾病中,速发型过敏反应比较常见,其主要类型有皮肤过敏反应、呼吸道过敏反应、消化道过敏反应和过敏性休克等,对人类健康造成了不同程度的危害,严重者甚至有生命危险。过敏性疾病是当前世界性的重大卫生学问题,全球总发病率约为 15%~30%,我国约有 5%~10% 的人受过敏原的困扰,其已被世界卫生组织(World Health Organization, WHO)列为 21 世纪重点防治的三大疾病之一<sup>[1-3]</sup>。

屋尘螨(*Dermatophagoides pteronyssinus*, 国际过敏原代码 D1)和粉尘螨(*Dermatophagoides farinae*, 国际过敏原代码 D2)是常见的吸入性过敏原,能诱发哮喘、过敏性鼻炎、湿疹和结膜炎等过敏性疾病以及严重过敏反应。研究表明尘螨与哮喘等过敏性疾病密切相关<sup>[4-6]</sup>。

尘螨过敏的诊断主要依赖免疫学检测。目前临床上有许多体内和体外的免疫学检测方法,包括尘螨变应原皮肤试验、血清尘螨特异性免疫球蛋白 E (specific immunoglobulin E, sIgE) 抗体测定、尘螨支气管或鼻腔激发试验、肥大细胞脱颗粒试验、嗜酸粒细胞阳离子蛋白水平测定等。尘螨过敏患者的 sIgE 抗体水平增高,检测 sIgE 抗体水平可以帮助确诊尘螨过敏及其过敏程度,同时可以作为评价临床疗效的指标<sup>[7-10]</sup>。临床 sIgE 抗体定量检测技术的发展经历了 20 世纪 60 年代的放射免疫诊断技术(radioimmunoassay, RIA),目前临床多采用 ELISA 检测方法<sup>[11-12]</sup>,但其检

测的灵敏度和准确度远不如化学发光免疫分析法(chemiluminescence immunoassay, CLIA)<sup>[13]</sup>,而且 CLIA 克服了 ELISA 法非均相反应所带来的本底特异性不高的缺点。长期以来,临床可用的 sIgE 定量检测系统很少,采用免疫荧光法的 ImmunoCAP<sup>®</sup>系统是国际上普遍接受的过敏原检测方法<sup>[14-15]</sup>,但该系统成本较高,在国内很难大范围推广。纳米磁微粒化学发光免疫分析法(magnetic nanoparticle chemiluminescence immunoassay, NM-CLIA)是目前国际上先进的免疫学检测技术,该技术整合了悬浮磁微粒载体包被技术和 CLIA,因此具有检测范围宽、灵敏度高、特异性强、快速准确等优点<sup>[16-17]</sup>。本研究按照美国临床实验室标准化协会标准方法,评价 NM-CLIA 定量检测屋尘螨和粉尘螨 sIgE 抗体的性能。

## 1 材料和方法

1.1 仪器与试剂 Lumiray 1600 型全自动纳米磁微粒化学发光检测平台及其配套清洗液、发光底物,屋尘螨、粉尘螨 sIgE 抗体检测试剂盒(磁微粒化学发光法)及其校准品、校准品稀释液和质控品(0.7 U/mL 和 17.5 U/mL)均购自江苏浩欧博生物医药股份有限公司,其中屋尘螨、粉尘螨 sIgE 抗体检测试剂盒中包括生物素化的屋尘螨、粉尘螨过敏原,碱性磷酸酶标记的鼠抗人 IgE 二抗和链霉亲和素标记的纳米磁微粒。屋尘螨、粉尘螨 sIgE 抗体免疫荧光法检测试剂及配套仪器购自美国赛默飞公司。

1.2 样本来源 收集于上海交通大学医学院附属苏州九龙医院儿科、皮肤科和耳鼻喉科门诊就诊的疑似过敏患者血清样本。入选标准:年龄、性别不限,乙肝表面抗原(HBsAg)、丙型肝炎抗体(抗-HCV 抗体)、人类免疫缺陷病毒 1/2 抗体(抗-HIV1/2 抗体)和梅毒螺旋体抗体(抗-TP 抗

体)均为阴性,临床症状表现为疑似屋尘螨、粉尘螨过敏(过敏性鼻炎、过敏性哮喘、过敏性结膜炎、过敏性皮炎、过敏性荨麻疹等)的患者。本研究通过上海交通大学医学院附属苏州九龙医院医学伦理委员会审批(批件号KY-2017-020)。

**1.3 NM-CLIA** NM-CLIA通过间接法反应原理检测屋尘螨和粉尘螨 sIgE 抗体,反应全程在 Lumiray 1600 型全自动纳米磁微粒化学发光检测平台上自动运行。具体反应过程如下:(1)将待测样本 15  $\mu\text{L}$ 、链霉亲和素标记的纳米磁微粒 45  $\mu\text{L}$ 、生物素标记的屋尘螨或粉尘螨过敏原 15  $\mu\text{L}$  混合,于 37  $^{\circ}\text{C}$  孵育 15 min,样本中屋尘螨或粉尘螨 sIgE 抗体与屋尘螨或粉尘螨过敏原特异性结合,并附着在磁微粒表面,经洗涤去除多余的生物素标记的屋尘螨或粉尘螨过敏原。(2)加入碱性磷酸酶标记的鼠抗人 IgE 二抗 130  $\mu\text{L}$ ,形成固相抗原-抗体-酶标二抗复合物,经过洗涤,未被结合的酶标抗体以及其他物质被去除。(3)加入发光底物 200  $\mu\text{L}$ ,酶标抗体上的酶催化发光底物发射光子,发光强度与样本中的 sIgE 抗体含量成正比。使用已知浓度的校准品校准曲线,将待测物的发光强度代入校准曲线进行拟合计算,即可得出样本中屋尘螨和粉尘螨 sIgE 抗体的含量。

**1.4 定标曲线** 采用全点定标,人源性 IgE 蛋白的 7 个不同浓度水平的校准品为 0 U/mL (S0)、0.35 U/mL (S1)、0.7 U/mL (S2)、3.5 U/mL (S3)、17.5 U/mL (S4)、50 U/mL (S5)、100 U/mL (S6)。

**1.5 性能指标评价** (1)最低检出限(limit of detection, LoD):用校准品 S0 和 S1 作为样本进行检测,其中 S0 重复测定 20 次,S1 重复测定 5 次,计算 S0 重复测定 20 次的浓度平均值(M)和标准差(SD),得出  $M+2SD$ ,代入 S0、S1 的浓度和发光值的平均值拟合得出一次方程,计算得到的浓度值即为 LoD。(2)稀释线性:将 NM-CLIA 测定值为 100 U/mL 的样本用校准品 S0 进行 3 倍倍比稀释,共稀释 7 次,最终稀释浓度 $\leq 0.35$  U/mL,每个稀释样本测定 3 次,计算浓度值,将测定的平均浓度与理论浓度以最小二乘法线性拟合,剔除离群值后回归拟合,并对回归方程进行线性检验。(3)批内精密度(within-run precision):选择 NM-CLIA 测定值为高值( $>17.5$  U/mL)、中值( $>3.5$  U/mL 且 $<10$  U/mL)和低值( $<0.7$  U/mL)的样本,

重复测定 10 次,计算 M 和 SD,再计算批内精密度 $[(SD/M)\times 100\%]$ 。(4)批间精密度(between-run precision):选择 NM-CLIA 测定值为高值( $>17.5$  U/mL)、中值( $>3.5$  U/mL 且 $<10$  U/mL)和低值( $<0.7$  U/mL)的样本重复测定 4 次,每天 2 次,连续测定 10 d,计算 M 及 SD,再计算批间精密度 $[(SD/M)\times 100\%]$ 。

**1.6 方法学比对** 应用 NM-CLIA 和免疫荧光法同时检测屋尘螨和粉尘螨 sIgE 抗体,对 2 种方法进行级别符合率分析。根据 cut-off 值为 0.35 U/mL 进行判定, $<0.35$  U/mL 为阴性, $\geq 0.35$  U/mL 为阳性。根据美国赛默飞 Phadia 过敏原诊断试剂分级标准进行 sIgE 分级:0.35 U/mL $\leq$ 1 级 $\leq$ 0.7 U/mL,0.7 U/mL $<$ 2 级 $\leq$ 3.5 U/mL,3.5 U/mL $<$ 3 级 $\leq$ 17.5 U/mL,17.5 U/mL $<$ 4 级 $\leq$ 50 U/mL,50 U/mL $<$ 5 级 $\leq$ 100 U/mL, $>100$  U/mL 为 6 级。以美国赛默飞 Phadia 过敏原诊断结果为标准,分别计算 NM-CLIA 检测的屋尘螨和粉尘螨 sIgE 抗体阴性、阳性符合率及  $\pm 1$  级别符合率。其中阳性符合率为 Phadia 阳性样本中 NM-CLIA 阳性例数/Phadia 阳性样本数,阴性符合率为 Phadia 阴性样本中 NM-CLIA 阴性例数/Phadia 阴性样本数; $\pm 1$  级别符合率为 Phadia 阳性样本中 NM-CLIA 测定值为阳性,同时与 Phadia 级别差 $\leq \pm 1$  的样本数/Phadia 阳性样本数。

**1.7 统计学处理** 应用 SPSS 21.0 软件分别对 NM-CLIA 与免疫荧光法检测的屋尘螨过敏原和粉尘螨过敏原的阴性、阳性测定值进行  $\chi^2$  检验和 Kappa 检验。检验水准( $\alpha$ )为 0.05。

## 2 结果

**2.1 LoD 测定结果** 重复测定 S0 样本 20 次,计算得到 LoD 均小于 0.01 U/mL,见表 1。

**2.2 稀释线性试验结果** 将测定浓度的平均值与理论浓度以最小二乘法进行直线拟合,得线性回归方程。屋尘螨线性回归方程为  $y=0.999 1x+0.066 7$  ( $R^2=0.999 8$ ),粉尘螨线性回归方程为  $y=0.973 3x+0.603 7$  ( $R^2=0.999 1$ ),屋尘螨和粉尘螨在 0.1~100 U/mL 范围内都呈现良好的线性关系。

**2.3 批内精密度试验结果** 使用高值、中值和低值 3 个不同浓度的样本重复测定 10 次,批内精密度均小于 5%,精密度良好。见表 2。

表 1 LoD 测定结果

Tab 1 Results of limit of detection (LoD)

Sample	Value $z_B/(U \cdot mL^{-1})$	Allergen	M (RLU)	SD (RLU)	M+2SD (RLU)	LoD $z_B/(U \cdot mL^{-1})$
S0	0	<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	15 023	567	16 157	<0.01
S1	0.35	<i>Dermatophagoides farinae</i>	16 975	471	17 917	<0.01

M: Mean; SD: Standard deviation; RLU: Relative light unit

表 2 屋尘螨和粉尘螨的批内精密度

Tab 2 Within-run precision of *Dermatophagoides pteronyssinus* and *Dermatophagoides farinae*

Allergen	Sample	M $z_B/(U \cdot mL^{-1})$	SD $z_B/(U \cdot mL^{-1})$	Within-run precision (%)
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	Low value	0.50	0.007	1.4
	Median value	5.34	0.080	1.5
	High value	18.70	0.299	1.6
<i>Dermatophagoides farinae</i>	Low value	0.61	0.021	3.5
	Median value	7.24	0.123	1.7
	High value	21.08	0.422	2.0

M: Mean; SD: Standard deviation

2.4 批间精密度试验结果 使用高值、中值和低值 3 个不同浓度的样本重复测定 4 次, 每天 2 次, 连续测定 10 d, 结果显示屋尘螨和粉尘螨检测

试剂盒的批间精密度均小于 8%, 可满足临床应用。见表 3。

表 3 屋尘螨和粉尘螨的批间精密度

Tab 3 Between-run precision of *Dermatophagoides pteronyssinus* and *Dermatophagoides farinae*

Allergen	Between-run precision			Total-run precision		
	Low value	Median value	High value	Low value	Median value	High value
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	7.2	7.1	6.8	9.5	9.4	8.9
<i>Dermatophagoides farinae</i>	7.0	6.8	7.1	9.3	8.5	8.2

%

2.5 方法学比对结果 分别用 NM-CLIA 和免疫荧光法同时对 244 例屋尘螨疑似过敏患者和 245 例粉尘螨疑似过敏患者的血清样本进行屋尘螨和粉尘螨 sIgE 抗体检测, 比对数据进行级别符合率分析。与免疫荧光法相比, 屋尘螨过敏原的阳性符合率为 95%, 阴性符合率为 92%,  $\chi^2=174.45$ ,  $P<0.001$ ,  $Kappa=0.843$ , 表明 NM-CLIA 和免疫荧光法有良好的一致性, 且  $\pm 1$  级符合率为 95.6%,  $\pm 2$  级符合率为 96.1%, 敏感度为 96.1%, 特异度为 92.5%; 粉尘螨过敏原的阳性符合率为 91%, 阴性符合率为 97%,  $\chi^2=154.26$ ,  $P<0.001$ ,  $Kappa=0.787$ , 表明 NM-CLIA 和免疫荧光法有良好的一致性, 且  $\pm 1$  级符合率为 94.2%,  $\pm 2$  级符合率为 94.2%, 敏感度为 94.2%, 特异度为 92.1%。见表 4。

### 3 讨论

近年来过敏性疾病的发病率有逐渐升高的倾向, 这可能与大气及环境的污染和食品添加剂的广泛应用等有关。在临床上很多患者无法确定过敏原, 给疾病的预防和治疗带来了很大困难。过敏原检测的传统皮试方法不适用于 I 型过敏性反应, 急性期过敏性反应患者也不宜开展皮试, 服用抗组胺、类固醇激素药物也会影响皮试结果。基于抗原抗体免疫反应的过敏原体外检测则克服了以上缺点<sup>[5,18-19]</sup>。近年来过敏性疾病基于 IgE 检测的体外诊断发展非常迅速, 长期以来, 国内多采用蛋白质免疫印迹、ELISA 法等半定量方法检测过敏原 sIgE 抗体, 这些检测方法学除了无法为临床提供详尽的

定量信息外,还多是手工操作,由于受限于检测灵敏度、线性范围和精密度等因素,不易进行质

量控制,很难保证结果的准确性,导致临床应用价值下降。

表4 NM-CLIA和免疫荧光法对屋尘螨、粉尘螨 sIgE 抗体的检测结果

Tab 4 Results of NM-CLIA and immunofluorescence in detecting D1 and D2 sIgE antibodies

N=489, n

Immunofluorescence	NM-CLIA (D1)			NM-CLIA (D2)		
	Positive	Negative	Total	Positive	Negative	Total
Positive	196	8	204	195	12	207
Negative	3	37	40	3	35	38
Total	199	45	244	198	47	245

NM-CLIA: Magnetic nanoparticle chemiluminescence immunoassay; D1: *Dermatophagoides pteronyssinus*; D2: *Dermatophagoides farinae*; sIgE: Specific immunoglobulin E

检测系统是指完成一个检验项目所涉及的仪器、试剂、校准品、质控品、检验程序、保养计划等的组合。实现同一检验项目在不同检测系统检验结果的可比性,是实验室质量管理的最终目标<sup>[16]</sup>,而对比试验的结果是各实验室、各检测系统间采取整改措施的前提。为了考察 Lumiray 1600 型纳米磁微粒化学发光检测系统的批间精密度和批内精密度,本研究分别选用了屋尘螨和粉尘螨高值、中值、低值 3 个不同浓度的样本作为盲样,在 Lumiray 1600 型纳米磁微粒化学发光检测仪上进行测定,结果显示,屋尘螨和粉尘螨的批内精密度均小于 5%。批间精密度均小于 8%,LoD 均小于 0.01 U/mL,表明 Lumiray 1600 型纳米磁微粒化学发光检测系统的批间精密度、批内精密度和 LoD 均符合临床要求,比对试验数据可靠。本研究所选择的 2 个系统分别测试了 244 例屋尘螨疑似过敏样本和 245 例粉尘螨疑似过敏样本,结果表明,两个系统之间  $\chi^2 > 3.84$ ,  $P < 0.001$ ,  $Kappa > 0.75$ ,阳性符合率、±1 级符合率和阴性符合率均大于 90%,表现出良好的一致性。Lumiray 1600 型纳米磁微粒化学发光检测系统所表现出的良好性能指标及其与国际主流测试系统(即本研究使用的美国赛默飞公司免疫荧光系统)的良好一致性表明 Lumiray 1600 型纳米磁微粒化学发光检测系统在临床检测中有优异的可靠性和巨大价值,有潜力成为临床检测过敏原 sIgE 的优选方案。

虽然尘螨过敏原 sIgE 的测定可以为过敏性疾病的诊断提供一定的临床指导,但并非所有 sIgE

升高都会引起过敏反应,此时应严格结合患者的临床症状进行确认<sup>[1,17]</sup>。一旦确认患者对特定的物质产生过敏反应,则应及时采取措施避免患者接触过敏原和给予积极的药物治疗。本研究中仅针对 Lumiray 1600 型纳米磁微粒化学发光检测系统在屋尘螨和粉尘螨 sIgE 检测方面的性能进行了全面评估,未来仍需要利用更多的明确诊断为过敏性疾病患者的血清样本对该系统其他过敏原 sIgE 抗体的检测进行更全面的评估和验证,为该系统的临床应用提供更充分的依据。

[参考文献]

- [1] TRRN BULL J L, ADAMS H N, GORARD D A. Review article: the diagnosis and management of food allergy and food intolerances[J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2015, 41: 3-25.
- [2] 马晓蕾,孙青苗,贾军,蔡林. 过敏性皮肤病患者血清吸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)*,2012,44:765-769.
- [3] 丁红梅,王学谦. 过敏性疾病的诊断及研究进展[J]. *中国综合临床*,2007,23:664-666.
- [4] 叶泽慧,黄英,王莹,龚财惠,蒋永惠. 屋尘螨疫苗治疗儿童哮喘 2 年肺功能和激素用量的动态观察[J]. *南方医科大学学报*,2012,32:1632-1635.
- [5] VICENCIO A G, SANTIAGO M T, TSIRILAKIS K, STONE A, WORGALL S, FOLEY E A, et al. Fungal sensitization in childhood persistent asthma is associated with disease severity[J]. *Pediatr Pulmonol*, 2014, 49: 8-14.
- [6] 郑玉琼,周维,李文,张爱平,尹洁,梁睿. 联合方案治疗尘螨过敏性咳嗽变异型哮喘患者临床疗效及机制探讨[J]. *医药卫生(全文版)*,2017,3:280-281.
- [7] JEONG K Y, PARK J W, HONG C S. House dust mite

- allergy in Korea: the most important inhalant allergen in current and future[J]. *Allergy Asthma Immunol Res*, 2012, 4: 313-325.
- [8] COX L. Overview of serological specific IgE antibody testing in children[J]. *Curr Allergy Asthma Rep*, 2011, 11: 447-453.
- [9] ARSHAD S H, DHARMAGE S C, FERREIRA F, FIXMAN E D, GADERMAIER G, HAUSER M, et al. Developments in the field of allergy in 2011 through the eyes of Clinical and Experimental Allergy[J]. *Clin Exp Allergy*, 2012, 42: 1697-1723.
- [10] YU S J, LIAO E C, TSAI J J. House dust mite allergy: environment evaluation and disease prevention[J]. *Asia Pac Allergy*, 2014, 4: 241-252.
- [11] OLLERT M, WEISSENBACHER S, RAKOSKI J, RING J. Allergen-specific IgE measured by a continuous random-access immunoanalyzer: interassay comparison and agreement with skin testing[J]. *Clin Chem*, 2005, 51: 1241-1249.
- [12] LEE J H, PARK K H, KIM H S, KIM K W, SOHN M H, KIM C H, et al. Specific IgE measurement using AdvanSure<sup>®</sup> system: comparison of detection performance with ImmunoCAP<sup>®</sup> system in Korean allergy patients[J]. *Clin Chim Acta*, 2012, 413(9/10): 914-919.
- [13] PETERSEN A B, GUDMANN P, MILVANG-GRØNAGER P, MØRKEBERG R, BØGESTRAND S, LINNEBERG A, et al. Performance evaluation of a specific IgE assay developed for the ADVIA centaur<sup>®</sup> immunoassay system[J]. *Clin Biochem*, 2004, 37: 862-892.
- [14] ASALKHOUM M, ALEM N, AHMADI N A, HAMED I N, ALEM M. Evaluation of an innovative diagnostic method for detection of antibodies and antigens[J]. *Int J Clin Med*, 2017, 8: 306-321.
- [15] JOHANSSON S G. ImmunoCAP<sup>®</sup> specific IgE test: an objective tool for research and routine allergy diagnosis[J]. *Expert Rev Mol Diagn*, 2004, 4: 273-279.
- [16] INOUE Y, SHIMOJO N. Microbiome/microbiota and allergies[J]. *Semin Immunopathol*, 2015, 37: 57-64.
- [17] 张升, 朱威. 常用过敏原检测方法的探讨[J/CD]. *中华临床医师杂志(电子版)*, 2011, 5: 5753-5755.
- [18] KLEINE-TEBBE J. Old questions and novel clues: complexity of IgE repertoires[J]. *Clin Exp Allergy*, 2012, 42: 1142-1145.
- [19] 王瑞琦, 尹佳. 采用酶联免疫捕获法检测过敏原特异性 IgE 抗体的性能评价[J]. *中华检验医学杂志*, 2016, 39: 824-828.

[本文编辑] 杨亚红