

• 临床检验研究论著 •

## 两种血清学检测方法在婴、幼儿肺炎支原体感染早期诊断中的应用研究\*

倪少娟, 黄丽英, 曾尚娟, 陶春风, 张雪花, 佘尚扬<sup>△</sup>

(广西壮族自治区妇幼保健院/广西妇产医院/广西儿童医院检验科, 广西南宁 530003)

**摘要:**目的 比较和分析肺炎支原体抗体的两种血清学检测方法, 探讨其在婴、幼儿肺炎支原体感染早期诊断中的临床意义。方法 收集急性呼吸道感染患儿 3 365 例, 根据不同年龄将其分为 0~<1 岁组( $n=1\ 267$ )、1~<3 岁组( $n=1\ 709$ )、3~<6 岁组( $n=257$ )、6~<13 岁组( $n=132$ )。采用被动颗粒凝集法(PPA)及间接免疫荧光法(IFA)检测肺炎支原体抗体 MP-IgM, 对 IFA 和 PPA 检测结果不一致的患儿进行双份血清 MP-IgM 抗体效价检测。结果 0~<1 岁和 1~<3 岁组患儿 IFA 检测的 MP-IgM 阳性率高于 PPA 检测( $P<0.01$ ), 3~<6 岁组和 6~<13 岁组患儿采用两种方法检测的 MP-IgM 阳性率比较, 差异无统计学意义( $P>0.05$ )。两种检测方法的阳性符合率为 95.53%(1 113/1 165), 阴性符合率为 89.45%(1 968/2 200), 总符合率为 91.56%(3 081/3 365)。28 例患儿双份血清 MP-IgM 抗体效价检测中, 24 例患儿的肺炎支原体抗体升高 4 倍。结论 IFA 和 PPA 联合检测可有效提高肺炎支原体感染早期诊断的敏感性和特异性。

**关键词:**支原体, 肺; 抗体; 早期诊断; 荧光免疫测定; 被动颗粒凝集法

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.21.017

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)21-2827-03

Application research of two serological tests in early diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae* infection in infants and young children\*Ni Shaojuan, Huang Liying, Zeng Shangjuan, Tao Chunfeng, Zhang Xuehua, She Shangyang<sup>△</sup>

(Department of Clinical Laboratory, Guangxi Maternal and Child Health Hospital/Guangxi Maternity Hospital/Guangxi Children Hospital, Nanning, Guangxi 530003, China)

**Abstract:** Objective To compare and analyze the two serological tests for *Mycoplasma pneumoniae* antibody and discuss their clinical significance in early diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae* infection in infants and young children. Methods 3 365 children with acute respiratory infection were collected and divided into 0~<1-year old group( $n=1\ 267$ ), 1~<3-year old group( $n=1\ 709$ ), 3~<6-year old group( $n=257$ ) and 6~<13-year old group( $n=132$ ) according to different ages. Passive particle agglutination(PPA) and indirect immunofluorescence assay(IFA) were employed to detect the *Mycoplasma pneumoniae* antibody MP-IgM. Detection of MP-IgM antibody titer was performed in double serum samples of children whose IFA and PPA results were inconsistent. Results Positive detection rates of MP-IgM of children in 0~<1-year old group and 1~<3-year old group using IFA method were higher than those using PPA method( $P<0.01$ ). Compared the positive detection rates of MP-IgM of children in 3~<6-year old group and 6~<13-year old group between the two detection methods, difference showed no statistical significance( $P>0.05$ ). Coincidence rate of positive results of the two detection methods was 95.53%(1 113/1 165), while that of negative results was 89.45%(1 968/2 200) and the total coincidence rate was 91.56%(3 081/3 365). In the detection of MP-IgM antibody titer in 28 cases of double serum samples, *Mycoplasma pneumoniae* antibodies of 24 children were found to be increased 4 times. Conclusion IFA and PPA joint detection may effectively improve the sensitivity and specificity of early diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae* infection.

**Key words:** mycoplasma pulmonis; antibodies; early diagnosis; fluoroimmunoassay; passive particle agglutination method

肺炎支原体是小儿呼吸道感染的主要病原体, 肺炎支原体感染性肺炎好发于学龄期儿童, 婴、幼儿的发病率有所上升<sup>[1-3]</sup>。肺炎支原体感染的实验室诊断目前还没有统一标准, 国内常用的检测方法包括被动颗粒凝集法(passive particle agglutination, PPA)<sup>[4]</sup>及间接免疫荧光法(indirect immunofluorescence assay, IFA), PPA 是用肺炎支原体细胞膜成分致敏人工明胶粒子, 致敏粒子与血清中存在的肺炎支原体抗体发生凝集反应, PPA 操作简单、结果稳定, 但不能区分所检测抗体的类别。IFA 是采用肺炎支原体作为抗原固定在玻片上, 检测肺炎支原体的特异性早期抗体 MP-IgM。本课题回顾性分析了 PPA 和 IFA 这两种肺炎支原体血清学检测方法在婴、幼儿肺炎支原体感染早期诊断中的临床应用。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 收集 2011 年 10 月至 2012 年 10 月于本院儿科住院的急性呼吸道感染患儿 3 365 例, 其中, 男 2 308 例, 女 1 057 例; 主要临床表现为发热、咳嗽、喘息等。根据不同年龄将其分为 4 个组: 0~<1 岁组 1 267 例, 1~<3 岁组 1 709 例, 3~<6 岁组 257 例, 6~<13 岁组 132 例。

**1.2 标本采集** 患儿入院当天抽取静脉血 2 mL 置于干燥真空采血管, 分离血清后置 4℃ 冰箱保存, 对 IFA 和 PPA 检测结果不一致的患儿进行双份血清 MP-IgM 抗体效价检测, 双份血清 MP-IgM 抗体效价检测的采集时间间隔 12~20 d, 标本采集后于 2 个工作日内完成检测。

## 1.3 检测方法

\* 基金项目: 广西壮族自治区卫生厅自筹经费课题(Z2008201)。  
△ 通讯作者, E-mail: shangyangwqy@163.com。

作者简介: 倪少娟(1958~), 女, 副主任技师, 主要从事临床免疫学检验工作。

**1.3.1 PPA** 采用日本富士瑞必欧株式会社的肺炎支原体抗体检测试剂盒进行 PPA 检测,实验操作按照说明书进行,每份标本设阴性对照孔,每个检测批次设阳性对照,以血清稀释度不低于 1:40 时出现阳性(+)反应图像为检测阳性,将显示出现阳性(+)反应图像的最终稀释倍数作为抗体滴度。

**1.3.2 IFA** 采用郑州安图科技发展有限公司的九项呼吸道感染病原体 IgM 抗体检测试剂盒,在包被有已知肺炎支原体抗原的生物薄片上,加入经 IgG 吸附剂处理后的患者血清以检测 MP-IgM 抗体。每份标本设阴性对照孔,每个检测批次设阳性对照,实验操作和结果判断严格参照试剂盒说明书。

**1.4 双份血清 MP-IgM 抗体效价检测** 经 IFA 和 PPA 检测,检测结果不一致的 28 例患儿,经家长同意复检,采用 PPA

法进行双份血清 MP-IgM 抗体效价检测,其中,21 例为 IFA 阳性而 PPA 阴性,7 例为 IFA 阴性而 PPA 阳性。双份血清抗体效价升高不低于 4 倍为检测阳性。

**1.5 统计学处理** 采用 SPSS13.0 软件进行统计学分析,率比较采用  $\chi^2$  检验,以  $\alpha=0.05$  为检验水准,以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

**2 结果**

采用 PPA 检测,3 365 急性呼吸道感染患儿中共检出肺炎支原体 MP-IgM 抗体阳性 1 165 例,阳性率为 34.62%;不同年龄组肺炎支原体 MP-IgM 抗体阳性率的差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。不同年龄组,肺炎支原体 MP-IgM 抗体滴度为 1:40 的患儿所占百分比最高,其次为 1:80,见表 1。

表 1 不同年龄段患儿中不同肺炎支原体 MP-IgM 抗体滴度所占百分比的情况[n(%)]

组别	n	1:40	1:80	1:160	1:320	>1:320	合计
0~<1 岁	1 267	102(8.05)	39(3.08)	13(1.03)	1(0.08)	4(0.32)	159(12.55)
1~<3 岁	1 709	390(22.82)	246(14.39)	85(4.97)	39(2.28)	15(0.88)	775(45.35)
3~<6 岁	257	60(23.35)	50(19.46)	27(10.51)	9(3.50)	8(3.11)	154(59.92)
6~<13 岁	132	23(17.42)	29(21.97)	16(12.12)	6(4.55)	3(2.27)	77(58.33)
合计	3 365	575(17.09)	364(10.82)	141(4.19)	55(1.63)	30(0.89)	1 165(34.62)

采用 IFA 检测,3 365 急性呼吸道感染患儿中 MP-IgM 阳性率为 39.97%(1 345/3 365),高于 PPA 检测的 MP-IgM 阳性率[34.62%(1 165/3 365)],两种检测方法的阳性率比较,差异有统计学意义( $P<0.01$ ),其中,0~<1 岁和 1~<3 岁组患儿 IFA 检测的 MP-IgM 阳性率高于 PPA 检测,差异有统计学意义( $P<0.01$ );而 3~<6 岁组和 6~<13 岁组患儿采用两种方法检测的 MP-IgM 阳性率比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ ),见表 2。

表 2 IFA、PPA 检测的 MP-IgM 阳性率比较[n(%)]

组别	n	IFA	PPA	$\chi^2$	P
0~<1 岁	1 267	222(17.52)	159(12.55)	12.26	<0.01
1~<3 岁	1 709	871(50.97)	775(45.35)	10.80	<0.01
3~<6 岁	257	175(68.09)	154(59.92)	3.72	>0.05
6~<13 岁	132	77(58.33)	77(58.33)	0.00	>0.05
合计	3 365	1 345(39.97)	1 165(34.62)	20.59	<0.01

采用 IFA、PPA 检测 MP-IgM,3 365 急性呼吸道感染患儿中检测结果不一致的共有 284 例。其中,52 例为 PPA 检测阳性,而 IFA 检测阴性,其阳性滴度分布为:1:40 为 27 例,1:80 为 16 例,1:160 为 7 例, $\geq 1:320$  为 2 例;232 例为 PPA 检测阴性,而 IFA 检测阳性。IFA 与 PPA 的检测结果比较,差异有统计学意义( $\chi^2=112.82, P<0.01$ );两种检测方法的阳性符合率为 95.53%(1 113/1 165),阴性符合率为 89.45%(1 968/2 200),总符合率为 91.56%(3 081/3 365)。28 例患儿双份血清 MP-IgM 抗体效价检测中,24 例患儿的肺炎支原体抗体升高 4 倍,其中,21 例 IFA 检测阳性,而 PPA 检测阴性的双份血清中,有 19 例 MP-IgM 升高 4 倍,阳性符合率为 90.48%(19/21);7 例 IFA 检测阴性,而 PPA 检测阳性的双份血清中,有 5 例 MP-IgM 升高 4 倍,阳性符合率为 71.43%(5/7)。

**3 讨论**

儿童肺炎支原体感染除可引起呼吸道损伤外,还可导致神经、皮肤、血液、泌尿系统、消化系统等多器官的损害,其临床表现往往无特异性,与一般病毒引起的感染症状难以鉴别<sup>[3,5]</sup>。因此,实验室检查对肺炎支原体感染的诊断具有重要意义。支

原体分离培养是实验诊断的金标准,但肺炎支原体自身生长条件要求苛刻、分离率低、时间长、成本高,不适于临床应用,肺炎支原体实验诊断主要采用血清学检测和分子生物学检测等,分子生物学检测对样本采集要求和实验室条件要求高而无法普及,用免疫学方法检测病原体的特异性抗体则可提供重要的依据,并可进行早期诊断<sup>[6-9]</sup>。肺炎支原体特异性 IgM 在病后第 3 天即可升高,应用 IFA 检测 MP-IgM 抗体,符合早诊断、早治疗的临床要求,还可同时进行多病原学的联合检测<sup>[10-11]</sup>。研究表明,3 岁以下低龄婴、幼儿的 IFA 检测阳性率明显高于 PPA 法。21 例 IFA 检测阳性,而 PPA 检测阴性的患儿中,经双份血清确认,19 例为肺炎支原体现症感染,提示 PPA 检测在肺炎支原体感染发病早期有一定数量的漏诊现象。因此,IFA 检测 MP-IgM 更适合低龄婴、幼儿肺炎支原体感染的早期诊断,这是由于 IFA 检测采用了免疫吸附的方法去除患者血清中的 IgG 型抗体,避免了特异性 IgG 与 IgM 竞争抗原结合位点,从而提高了 IgM 的敏感性。另外,PPA 不能鉴别产生抗体的类别,从而不能判定是近期感染产生的抗体,还是婴儿出生时从母体带来的 IgG 抗体。

PPA 检测单份血清的阳性判定,目前国内尚无统一标准。有以血清稀释度不低于 1:40 判定为阳性<sup>[12]</sup>,也有以血清稀释度不低于 1:80 判定为阳性,结果显示年龄大小与检测出的抗体滴度均值呈正相关<sup>[13]</sup>。应用受试者工作特征(receiver operator characteristic,ROC)曲线分析则显示抗体效价水平大于 1:160 为最佳的阳性截断值<sup>[14]</sup>。廖春盛等<sup>[15]</sup>报道呼吸道感染儿童的 MP-IgM 阳性率为 44.23%,肺炎支原体抗体滴度为 1:160 的患儿所占百分比(26.79%)最高。本组资料以抗体滴度 1:40 判定为阳性,阳性率为 34.6%,抗体滴度为 1:40 的患儿所占百分比最大(17.09%),而 1:160 检出率仅 4.2%,阳性率及抗体滴度分布均低于廖春盛等<sup>[15]</sup>的报道,这可能与本组资料中低龄婴、幼儿占多数有关,资料显示 0~<1 岁组患儿阳性率明显低于其他各年龄组,与姚雪曼<sup>[12]</sup>报道的结果相符。本组资料结果表明,以 1:40 抗体滴度判定为阳性是合适的,在 1 165 例 PPA 检测阳性结果中仅有 52 例 IFA 检测阴性,且该 52 例分布于各个阳性抗体滴度中。低龄婴、幼儿

既往接触抗原的概率与大龄儿童比较,相对较少,未能建立起免疫记忆反应,病原体感染后免疫反应能力较弱,是否需要根据不同年龄段,来设定不同的阳性判定标准还需要进一步深入研究。

7 例 IFA 检测阴性而 PPA 检测阳性的患儿,经双份血清确认,5 例为肺炎支原体现症感染,说明 IFA 也存在假阴性结果。当肺炎支原体再次感染,机体再次产生免疫应答时,特异性 IgM 持续时间短,可能检测不到 IgM 而造成 IFA 检测的假阴性结果。5 例确认的病例中,有 1 例患儿的肺炎支原体抗体滴度在前 8 个月和前 5 个月时分别为 1:80 和 1:40;另 1 例前 4 个月时为 1:160;3 例查询不到历史记录。52 例 IFA 检测阴性而 PPA 检测阳性的患儿,共查询到 16 例在过去 6 个月内有肺炎支原体抗体阳性的历史记录。另外,患者血清中存在自身抗体则可导致 IFA 检测的生物学假阳性,因此,IFA 检测也存在局限性。本研究显示,联合应用 IFA 和 PPA 检测,可有效提高肺炎支原体感染早期诊断的敏感性和特异性。

### 参考文献

- [1] 倪少娟,陶春风,周华辉,等. 儿科重症监护室和普通病房小儿下呼吸道感染病原学分析[J]. 中华妇幼临床医学杂志:电子版, 2012,8(6):629-632.
- [2] 吴茜,倪林仙,樊茂,等. 昆明地区儿童非典型病原体感染病原学回顾性分析[J]. 中国儿童保健杂志,2009,17(6):708-710.
- [3] 王秀丽,饶晓红,刘进生,等. 121 例儿童支原体肺炎临床分析[J]. 安徽医药,2011,15(4):448-450.
- [4] 王惠榕,萧剑雄. 肺炎支原体感染的流行病学研究进展[J]. 中国人兽共患病学报,2010,26(11):1062-1066.
- [5] 苏文,吴爱霞,徐辉甫,等. 肺炎支原体感染的监测分析(附 15514 例报告)[J]. 华中科技大学学报:医学版,2009,38(6):853-855.

(上接第 2826 页)

疫状态,这可能与疾病本身的发生、发展不断恶化有关,肝癌术后介入治疗本身往往主要在一些不再适宜再次进行手术治疗的患儿开展,现有的治疗并不能逆转病情的发展。

### 参考文献

- [1] 明华,车平,王雁飞. 原发性肝癌的治疗进展[J]. 国际检验医学杂志,2012,33(12):1466-1467.
- [2] 顾瑞基,岑贤友,费西平,等. 肝动脉栓塞化疗联合冷循环微波刀治疗肝癌[J]. 吉林医学,2012,33(23):4935-4936.
- [3] 李建海,刘勇山,徐锐. 肝癌介入诊疗技术[M]. 山东:山东科学技术出版社,2007.
- [4] 区金锐,王慧玲. 原发性肝癌的治疗新进展[J]. 循证医学,2012,12(2):85-88.
- [5] 包长斌,刘明涛,蒋林,等. 肝动脉化疗栓塞术治疗中晚期原发性肝癌的疗效分析[J]. 重庆医学,2012,41(32):3424-3425.
- [6] 李国文,郭贵海. TACE 在原发性肝癌中的应用现状与进展研究[J]. 江西医药,2012,47(12):1109-1111.
- [7] Burnet FM. Immunological Surveillance in Neoplasia[J]. Transplant. Rev,1971,7(1):3-25.
- [8] Wieder T, Braumüller H, Brenner E, et al. Changing T-cell enigma: Cancer killing or cancer control[J]. Cell Cycle,2013,12(19):3146-3153.
- [9] Sakaguchi S, Sakaguchi N, Asano M, et al. Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor alpha-chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tol-

- [6] She RC, Thurber A, Hymas WC, et al. Limited utility of culture for *Mycoplasma pneumoniae* and *Chlamydia pneumoniae* for diagnosis of respiratory tract infections[J]. J Clin Microbiol, 2010,48(9):3380-3382.
- [7] Yamazaki T, Narita M, Sasaki N, et al. Comparison of PCR for sputum samples obtained by induced cough and serological tests for diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae* infection in children[J]. Clin Vaccine Immunol,2006,13(6):708-710.
- [8] Honderlick P, Philippe B, Picard C, et al. Simultaneous detection by multiplex PCR of atypical bacterial pathogens involved in infections of respiratory tract. Is it useful for the microbiological diagnosis of respiratory infections[J]. Pathol Biol (Paris),2006,54(8/9):467-469.
- [9] 胡亚美,江载芳. 诸福棠实用儿科学[M]. 7 版. 北京:人民卫生出版社,2002:869.
- [10] 王涛,郭坤,牛家峰,等. 呼吸道病原体检测方法的研究进展[J]. 医学检验与临床,2010,21(4):95-96.
- [11] 江咏梅,柳晓琴,李文胜,等. 小儿呼吸道感染病原学的研究[J]. 现代预防医学,2007,34(21):4186-4187.
- [12] 姚雪曼. 926 例小儿肺炎支原体结果分析[J]. 医学检验与临床, 2011,22(3):108-108.
- [13] 郑玉平,张杰,周逸琴. 被动凝集法检测肺炎支原体抗体的结果分析[J]. 临床和实验医学杂志,2012,11(21):1720-1721.
- [14] 莫翔,余尚扬. 应用 ROC 曲线分析颗粒凝集法检测儿童肺炎支原体在近期感染中的效价水平[J]. 临床和实验医学杂志,2011,10(21):1669-1670.
- [15] 廖春盛,戴小波,刘建军. 呼吸道感染患者肺炎支原体检测的临床意义[J]. 国际检验医学杂志,2011,32(13):1474-1475.

(收稿日期:2013-05-29)

erance causes various autoimmune diseases[J]. J Immunol,1995, 155(3):1151-1164.

- [10] Sakaguchi S. Naturally arising CD4<sup>+</sup> regulatory T cells for immunologic self-tolerance and negative control of immune responses [J]. Annu Rev Immunol,2004,2:531-562.
- [11] Trzonkowski P, Szmit E, Mysliwska J et al. CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> T regulatory cells inhibit cytotoxic activity of CTL and NK cells in humans impact of immuno-senescence[J]. Clin Immunol,2006,119:307-316.
- [12] Degl'Innocenti E, Gironi M, Capuano G, et al. Peripheral T-cell tolerance associated with prostate cancer is independent from CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> regulatory T cells[J]. Cancer Res,2008,68(1):292-300.
- [13] Curiel TJ, Coukos G, Zou L, et al. Specific recruitment of regulatory T cells in ovarian carcinoma fosters immune privilege and predicts reduced survival[J]. Nat Med,2004,10(9):942-949.
- [14] Sasada T, Kimura M, Yoshida Y, et al. CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> regulatory T cells in patients with gastrointestinal malignancies: possible involvement of regulatory T cells in disease progression[J]. Cancer, 2003,98(5):1089-1099.
- [15] Kono K, Kawaida H, Takahashi A, et al. CD4(+)CD25high regulatory T cells increase with tumor stage in patients with gastric and esophageal cancers[J]. Cancer Immunol Immunother,2006, 55(9):1064-1071.

(收稿日期:2013-09-01)