

• 临床检验研究论著 •

9 项呼吸道病原体检测在呼吸道感染病因分析中的应用

胡 伟,代 琼,胡孝彬,陈 江

(宜宾市第二人民医院检验科,四川宜宾 644000)

摘 要:目的 探讨呼吸道感染的常见病因,为临床提供早期诊断依据。方法 选择呼吸道感染患者 3 514 例,空腹采集静脉血,采用间接免疫荧光法进行呼吸道嗜肺军团菌 1 型(LP1)、肺炎支原体(MP)、Q 热立克次体(COX)、肺炎衣原体(CP)、腺病毒(ADV)、呼吸道合胞病毒(RSV)、甲型流感病毒(IFA)、乙型流感病毒(IFB)、副流感病毒(PIV)9 项病原体的联合检测。结果 3 514 例患者血清 IgM 总阳性率为 35.00%(1 230/3 514),IFB 阳性率最高,为 26.01%;其次为 MP,阳性率为 16.28%;PIV、ADV、RSV 阳性率分别为 0.03%、2.27%、0.65%。病原体合并感染 413 例,阳性率为 11.75%(413/3 514)。结论 呼吸道感染的病原体主要为病毒和 MP。

关键词:呼吸道感染; 病原体; 荧光抗体技术,间接; 免疫球蛋白 M

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.23.024

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)23-3158-02

Application of nine respiratory pathogens detection in etiologic analysis of respiratory infection

Hu Wei, Dai Qiong, Hu Xiaobin, Chen Jiang

(Department of Clinical Laboratory, the Second People's Hospital of Yibin, Yibin, Sichuan 644000, China)

Abstract: Objective To investigate the common causes of respiratory infection, and provide basis for clinical early diagnosis. **Methods** 3 514 patients with respiratory tract infection were enrolled, and their fasting serum samples were collected. Indirect immunofluorescence was employed to conduct joint detection for *Legionella pneumophila* 1 (LP1), *Mycoplasma pneumoniae* (MP), *Coxiella burnetii* (COX), *Chlamydia pneumoniae* (CP), adenovirus (ADV), respiratory syncytial virus (RSV), influenza A virus (IFA), influenza B virus (IFB), parainfluenza virus (PIV) in respiratory tract. **Results** Among 3 514 patients, IgM-positive rate was 35.00%(1 230/3 514). IFB showed the highest positive rate, 26.01%, followed by MP, with positive rate of 16.28%, and PIV-, ADV-, RSV-positive rate were 0.03%, 2.27%, 0.65%, respectively. 413 cases were found pathogens infection, with positive rate of 11.75%(413/3 514). **Conclusion** Virus and MP are the main respiratory tract infection pathogens.

Key words: respiratory tract infections; pathogens; fluorescent antibody technique, indirect; immunoglobulin M

近年来呼吸道感染日趋严重,特别是儿童与青少年感染尤甚。引起呼吸道感染的病原体主要有病毒、细菌、支原体、衣原体、军团菌等微生物,一种病原体可引起多种临床表现,同一临床表现又可由多种病原体引起^[1]。由于这些非典型性致病原因引起的临床症状复杂不明显,患者往往被忽视或误诊,临床上也很难针对病原体进行治疗,使某些患者病情加重或造成抗菌药滥用。因此,呼吸道病原体的快速检测,对临床早期诊断有重要意义。有报道,在不同地区,引起患者呼吸道感染的病原体不尽相同,因此,对引起人群呼吸道感染的病原体进行监测,将为人群呼吸道感染的防治提供重要的病原学资料。本文拟通过分析 3 514 例呼吸道感染患者血清 9 项呼吸道病原体的联合检测结果,探讨呼吸道感染患者的病原体分布情况,分析呼吸道感染的常见病因,为临床提供早期诊断依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2012 年 6 月至 2013 年 4 月本院就诊的呼吸道感染患者 3 514 例,包括急性上呼吸道感染、急性支气管炎、肺炎等,其中,男 2 059 例,女 1 455 例;年龄 1 个月至 75 岁。

1.2 主要仪器与试剂 主要仪器为日本 Olympus 公司的 BX60 荧光显微镜。呼吸道联合检测试剂 Pneumoslide 为西班牙 VIRCELL 公司生产,1 卡同时检测人血清中呼吸道感染 9 项病原体的 IgM 抗体。包括嗜肺军团菌 1 型(LP1)、肺炎支原体(MP)、Q 热立克次体(COX)、肺炎衣原体(CP)、腺病毒

(ADV)、呼吸道合胞病毒(RSV)、甲型流感病毒(IFA)、乙型流感病毒(IFB)、副流感病毒(PIV)。

1.3 标本采集、保存及操作步骤 采集患者 1~2 mL 静脉血,3 500 r/min 离心后备用。当天标本及时检测,若不在 8 h 内检测,则将标本存入 2~8 ℃ 冰箱,若 7 d 内不检测,则置于 -20 ℃ 以下冷冻保存。剔除脂血或溶血的血清。

1.4 间接免疫荧光法检测 采用间接免疫荧光法检测患者血清中的 9 种病原体的 IgM 抗体,操作时严格按照说明书操作,每次试验都设立阴、阳对照,以保证试验结果的准确性和有效性。间接免疫荧光法是基于待测样本中的抗体与吸附在载玻片上的抗原发生的反应。样本中存在的特异性抗体与抗原反应。未与抗原结合的免疫球蛋白在洗涤步骤中除去。在下一步骤中,抗原-抗体复合物与荧光素标记的抗人球蛋白反应,用免疫荧光显微镜观察结果。

1.5 统计学处理 采用 SPSS11.5 软件进行统计学分析,计数资料用率表示,率的比较采用 χ^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

2.1 9 项呼吸道病原体的阳性率 3 514 例患者血清 IgM 总阳性率为 35.00%(1 230/3 514),各种病原体阳性率见表 1。其中,IFB 阳性率最高,为 26.01%,占总阳性例数的 74.00%(914/1 230);其次为 MP,阳性率为 16.28%,占总阳性例数的 46.50%(572/1 230);PIV、ADV、RSV 阳性率分别为 0.03%、

2.27%、0.65%。

表 1 9 项病原体检测的阳性情况

项目	LP1	MP	COX	CP	ADV	RSV	IFA	IFB	PIV
阳性例数(<i>n</i>)	5	572	0	1	80	23	12	914	106
阳性率(%)	0.14	16.28	0.00	0.03	2.27	0.65	0.34	26.01	3.01

2.2 9 项呼吸道病原体合并感染的情况 3 514 例患者血清中,病原体合并感染 413 例,阳性率约为 11.75%(413/3 514),占阳性病例的 33.58%(413/1 230)。其中,2 种病原体合并感染中,MP+IFB 合并感染最多,有 257 例,占阳性例数的 2.89%,其次为 IFB+PIV、MP+PIV、MP+ADV,见表 2;3 种病原体合并感染中,MP+IFB+PIV、MP+ADV+IFB 多见,阳性个数分别为 32 个、22 个,占阳性例数分别为 2.60%、1.78%,见表 3。MP、IFB、PIV、ADV 病原体在合并感染中比较常见。

表 2 2 种病原体合并感染的情况

项目	阳性例数 (<i>n</i>)	占总样本百分比 (%)	占阳性病例百分比 (%)
MP+IFB	257	7.31	20.89
IFB+PIV	25	0.71	2.03
MP+PIV	19	0.54	1.54
MP+ADV	17	0.48	1.38
ADV+IFB	11	0.31	0.89
LP1+IFB	3	0.08	0.24
MP+RSV	3	0.08	0.24
IFA+IFB	3	0.08	0.24
RSV+IFB	2	0.05	0.16
ADV+RSV	1	0.03	0.08
ADV+PIV	1	0.03	0.08
合计	342	9.73	27.8

表 3 3 种病原体合并感染的情况

项目	阳性例数(<i>n</i>)	占总样本 百分比(%)	占阳性病例 百分比(%)
MP+IFB+PIV	32	0.91	2.60
MP+ADV+IFB	22	0.62	1.78
MP+ADV+PIV	5	0.14	0.40
MP+IFA+IFB	5	0.14	0.40
MP+ADV+RSV	4	0.11	0.32
MP+RSV+PIV	2	0.05	0.16
MP+RSV+IFB	1	0.03	0.08
合计	71	2.02	5.77

3 讨 论

随着抗菌药的广泛使用,由细菌引起的呼吸道感染疾病有所降低,而非典型性病原体感染却日趋严重。因此,了解呼吸道感染病原体的检测手段和开展快速检测手段,已成为当务之急^[2]。致病原分析可以给临床提供有力依据,同时也是合理治疗用药的基础^[3]。由于非典型致病原致病后的临床症状相似,难以辨别,其诊断主要依靠实验室检查。实验室检查是诊断呼

吸道感染,特别是下呼吸道感染的主要手段,但目前的诊断效果仍不理想^[4]。病原体的分离培养常被作为“金标准”,但由于其培养时间长、操作繁琐、技术难度大、阳性率低等缺点,已逐渐被分子生物学检测所取代^[5],而后者对实验室条件要求高,商品化的产品较少,未形成系列,多数病原尚不能检测^[6]。血清学检测主要是酶联免疫学检测机免疫荧光检测等,近年来免疫技术快速发展,特别是免疫标记技术的广泛应用,如直接、间接免疫荧光法等标记技术,检测方便,快速且成本低,适合于临床要求,因此,在临床上有重要意义^[7-9]。

本研究所采用的 9 项呼吸道病原体 IgM 抗体检测原理为间接免疫荧光法,只需要一份微量血清样本,即可在较短时间内检测确定致病原。

呼吸道感染病原体检测的阳性率各地区有所不同。本次研究中,3 514 例患者中检测出阳性 1 230 例,阳性率为 35.00%,这与天津地区(31.6%)、重庆地区(32.6%)及杭州地区(34.3%)相似^[10-12]。9 种病原体中,流感病毒 IFB 阳性最高,其次是 MP,这与文献^[13-14]报道的社区获得性肺炎病原体检出率相符合。

病原体合并感染中,检出合并感染阳性共 413 例,阳性率约为 11.75%,占阳性病例的 33.58%,MP、IFB、PIV、ADV、RSV 在合并感染中较为常见。2 种病原体合并感染中,以 MP 合并其他病原体感染居多,占 86.55%,这与武汉相近^[15]。

呼吸道病原体 IgM 抗体的检测主要用于辅助诊断急性呼吸道感染。因机体在受到病原体的感染时,血清首先出现 IgM 抗体,且 IgM 一般情况下仅存在于感染后 2~3 个月。因此,IgM 抗体的出现是近期感染的一个有效标志^[16]。当机体再次感染时,可能不会出现 IgM,此时以 IgG 为主,因此,呼吸道病原体 IgM 抗体的检测对于急性呼吸道感染及其早期诊断有重要意义。

参考文献

[1] 周一平,陆学东,陈小可,等.急性下呼吸道感染患者支气管肺泡灌洗液非典型病原体与病毒检测[J].中华医院感染学杂志,2007,17(8):901-904.

[2] 徐军,赵敏,李伯安,等.不明原因呼吸道感染疫情病原学分析[J].解放军医学杂志,2010,35(3):252-255.

[3] 李海珠,吕波,林志方,等.小儿急性下呼吸道感染病原体检测与临床分析[J].中华检验医学杂志,2006,29(5):433-434.

[4] Polverino E,Torres A. Diagnostic strategies for healthcare-associated pneumonia[J]. Semin Respir Crit Care Med,2009,30(1):36-45.

[5] 秦茵茵,吴国锋,秦笙.九项呼吸道联检试剂对多种呼吸道感染病原体检测的临床意义[J].中华生物医学工程杂志,2012,18(2):124-127.

[6] 顾伟忠,曹群,汤宏峰,等.直接免疫荧光法对呼吸道分泌物多种呼吸道病毒检测的临床意义[J].实用儿科临床杂志,2004,19(10):857-858.

[7] Welliver RC. Detection, pathogenesis, and therapy of respiratory syncytial virus infections[J]. Clin Microbiol Rev, 1988, 1(1): 27-39.

[8] Ray CG, Minnich LL. Efficiency of immunofluorescence for rapid detection of common respiratory viruses [J]. J Clin Microbiol, 1987, 25(2): 355-357.

[9] 黄秋琳,许翔,江淑芳.直接免疫荧光法对多种呼吸道病毒检测的临床意义[J].检验医学与临床,2008,5(3):135-136.

[10] 孙丽霞,黄敬孚,张华.天津地区小儿下呼吸道(下转第 3161 页)

处出现 2 条色带,判定为白色念珠菌感染阳性。患者采用 GICA 检测的同时,还采用显微镜检查、临床症状评价,以筛选最为有效的鉴定方法。

1.2.4 疗效评判 治愈:指在治疗结束后 7~14 d 和下次月经前进行随访,2 次阴道分泌物的真菌学检查提示阴性,临床症状消失^[2]。有效:指在治疗结束后 7~14 d 和下次月经前进行随访,有 1 次阴道分泌物真菌学检查阳性,临床症状消失。无效:指在治疗结束后 7~14 d 和下次月经前随访,阴道分泌物真菌学检查仍阳性,和(或)出现临床症状。复发:指治愈后在随访期间再次发生 VVC 症状,且阴道分泌物的真菌学检查显示阳性。

1.3 随访 分别在治疗结束后 7~14 d 及下次月经前随访,治疗有效者继续用药 1 个疗程,按上述方法随访;治愈后 1 个月至月经前再随访一次。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件进行统计学分析,计数资料用率表示,率的比较采用 χ^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

2.1 两组患者 GICA、显微镜检查及临床症状评价的比较 GICA 较显微镜检查及临床症状评价有较高的符合率,敏感性和特异性分别为 89.58%、95.83%,远高于显微镜检查(75.00%和 79.16%),也优于临床症状,差别有统计学意义($P<0.05$)。

2.2 两组患者治疗总有效率的比较 治疗组和对照组患者在治疗后 7~14 d 及下次月经前复查,其总有效率分别为 97.92%、91.66%,二者差异有统计学意义($P<0.05$)。

2.3 两组患者复发率的比较 治疗有效者继续治疗 1 个疗程,治愈后 1 个月随访复发率。治疗组和对照组患者的复发率分别为 4.16%、20.83%,二者差异有统计学意义($P<0.05$)。

3 讨 论

VVC 是最常见的妇女外阴阴道炎症之一,80%~90% 的病原体为白假丝酵母菌,10%~20% 的妇女阴道中有此菌寄生而不引起症状,白假丝酵母菌为条件致病菌,在机体免疫力、生殖道抵抗力下降,或阴道内糖原增多、酸度增高时,为病原体提供良好的繁殖环境,从而引起症状,常见的诱因有妊娠、糖尿病、大量应用免疫抑制剂及广谱抗菌药,长期服用避孕药,穿紧身化纤内衣及肥胖也会诱发此病^[2]。因此,应避免滥用抗菌药,注意个人卫生,浴巾、内裤经常放在日光下晾晒。出现高危因素时及时,在治疗原发病的同时,积极治疗 VVC。寄居在阴道黏膜的假丝酵母菌附着在阴道上皮细胞上,阴道黏膜的轻度损伤均有利于酵母菌粘附致病。因此,建立和恢复正常阴道防御系统是治愈和防止复发的基础^[3]。

单纯显微镜检查加染色在真菌鉴定中已不能满足临床需要,现在有针对性真菌培养鉴定的显色平板及基因诊断等^[4],但

对于标本量较大的妇科门诊来说,速效、准确、简易可行且收费较低的方法更容易被医患双方接受。本研究的乳胶免疫层析法适用于女性阴道分泌物拭子样本中的白色念珠菌抗原进行体外定性测定,敏感性和特异性均高于显微镜检查和临床症状评价,有助于指导临床的诊断和疗效判断。

目前临床上尚无一种完全治愈 VVC 的药物,治疗的有效率主要取决于患者的依从性、药物的种类、局部药物浓度。本研究选用聚维酮碘联合硝呋太尔制霉菌素阴道软胶囊及氟康唑治疗 VVC,是因为聚维酮碘具有广谱杀菌作用,它主要对细菌繁殖体、病毒、芽孢、真菌、霉菌有较强的杀灭作用,它是表面活性剂与碘络合而成的不稳定结合物,其所含的表面活性成分能改变溶液对物体的浸润性,具有协助聚维酮碘穿透有机物的作用,并能乳化脂肪,加强碘的杀菌作用。因此,能改变真菌细胞壁层蛋白构型,造成膜通透性增加,碘继续渗入,继而破坏细胞内结构,使 DNA 复制和转录障碍,引起芽孢肿胀、变形、凹陷或局部破损^[5]。聚维酮碘还引起菌体内葡萄糖-6-磷酸脱氢酶、乳酸脱氢酶、碱性磷酸酶的活性下降,影响遗传信息的传递及蛋白质的合成,导致真菌细胞的死亡。由于表面活性剂的承载和助溶作用,使杀菌成分长久、充分接触被作用表面,达到彻底杀菌的效果。结合碘可解聚成游离碘,浓度大、杀菌力强、无味、无刺激、无致敏性、毒性低,且不产生耐药性^[6]。聚维酮碘有低腐蚀性,应用时浓度不宜太高,其稀溶液不稳定,需要在使用前配制,避免接触银、铝和二价合金,使用时用蒸馏水将其稀释为 0.5% 擦洗阴道,既能起到杀菌作用,又不会损伤阴道黏膜^[7],另外,其价格便宜。

总之,0.5% 聚维酮碘溶液治疗 VVC 及预防其复发效果显著,GICA 较显微镜检查更为准确易行,值得临床推广使用。

参考文献

[1] 中华妇产科学分会感染性疾病协作组. 外阴阴道念珠菌病诊治规范(草案)[J]. 中华妇产科杂志,2004,39(6):430-431.
[2] 祝建军,蒋琰琰,吴展,等. 复发性 VVC69 例诊治分析[J]. 中国实用妇科与产科杂志,2009,25(10):769-771.
[3] 刘淑芹,王君秀,于兵,等. 医院感染真菌性阴道炎的调查[J]. 中华医院感染学杂志,2011,21(21):4515-4515.
[4] 邓冠华,郑璇,周新,等. 常见病原真菌鉴定基因芯片方法的建立[J]. 中华检验医学杂志,2011,34(12):1114-1118.
[5] 王娉. 真菌性阴道炎 124 例临床分析[J]. 中国医药指南,2010,8(34):72-73.
[6] 向小平. 硝酸咪康唑栓使用前应用碘伏冲洗治疗阴道念珠菌病的疗效观察[J]. 临床和实验医学杂志,2010,9(16):1222-1223.
[7] 储海平. 碘伏在复发性霉菌性阴道炎临床治疗中的价值探讨[J]. 安徽医药,2012,16(11):1686-1687.

(收稿日期:2013-07-17)

(上接第 3169 页)

感染病毒病原谱的探讨[J]. 中国现代医学杂志,2004,14(24):129-130.
[11] 罗容,黄英,罗晓菊,等. 重庆儿童急性呼吸道感染 1731 例病毒病原学分析[J]. 重庆医科大学学报,2007,32(12):1279-1281,1346.
[12] 汪天林,陈志敏,汤宏峰,等. 小儿肺炎的病毒性病原学研究[J]. 浙江大学学报:医学版,2005,34(6):566-569,573.
[13] 袁壮. 儿童社区获得性肺炎的概念及临床意义[J]. 中国实用儿科杂志,2003,18(9):517-518.

[14] 黄荣妍. 儿童社区获得性细菌性肺炎治疗策略[J]. 中国医刊,2008,43(2):21-26.
[15] 李长振,饶菁菁,黄永国,等. 武汉地区 12125 例呼吸道感染患儿非细菌病原体 IgM 抗体检测结果分析[J]. 临床儿科杂志,2012,30(8):749-752.
[16] 谈华,虞伟,刘海平,等. 上呼吸道感染患儿肺炎支原体 IgM 类与低亲和 IgG 类抗体的测定[J]. 临床检验杂志,2007,25(6):419-421.

(收稿日期:2013-06-24)