

· 论 著 ·

快速检测方法在呼吸道感染病原体检测的临床价值

柴 娟

(河北省中医院检验科, 石家庄 050011)

摘 要:目的 探讨快速检测方法对呼吸道流感病毒、肺炎支原体检测的临床应用价值。方法 选取该院 2011 年 1 月至 2015 年 12 月收集的 386 例上呼吸道感染患者标本进行检测, 采用胶体金免疫沉积法检测患者鼻咽分泌物中的 A、B 型流感病毒, 采用快速培养法检测肺炎支原体, 以间接免疫荧光法检测患者的血清病原体抗体 IgM 结果作为金标准, 判断 2 种快速方法检测的临床价值。结果 间接免疫荧光法共检出 A 型流感病毒感染患者 54 例, 检出率 13.59%; 检出 B 型流感病毒感染患者 37 例, 检出率 9.59%; 检出肺炎支原体感染患者 61 例, 检出率 15.80%。胶体金免疫沉积法检出 A 型流感病毒感染的敏感度为 20.37%, 特异性为 92.77%; 胶体金免疫沉积法检出 B 型流感病毒感染的敏感度为 18.92%, 特异性为 93.41%; 快速培养法检出肺炎支原体感染的敏感度为 37.70%, 特异性为 89.85%。结论 快速检测方法对呼吸道流感病毒、肺炎支原体检出的敏感度较低, 临床上只能作为间接免疫荧光法检测的 1 种辅助手段。

关键词:快速检测; 流感病毒; 肺炎支原体

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.02.012

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)02-0179-03

Clinical value of rapid detection method in pathogens of respiratory tract infection

CHAI Juan

(Department of Clinical Laboratory, Hebei Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shijiazhuang, Hebei 050011, China)

Abstract: **Objective** To explore the clinical application value of rapid detection method for respiratory tract influenza virus and mycoplasma pneumoniae(MP). **Methods** 386 cases were selected from patients with respiratory infections in our hospital from January 2011 to December 2015 in the study, nasopharyngeal secretions A, B influenza virus were detected by gold immunochromatographic assay, the Mycoplasma pneumoniae(MP) was detected by rapid culture, and pathogens-IgM were detected by immunofluorescence assay. In the end, the two rapid detection method were compared with immunofluorescence assay. **Results** 386 cases of respiratory tract infections patients were detected by immunofluorescence assay, 54 cases were found influenza A virus infection, the positive rate was 13.59%, 37 cases were found influenza B virus infection, the positive rate was 9.59%, 61 cases were found MP infection, the positive rate was 15.80%. In detections of influenza A virus infection and influenza B virus infection, immunochromatographic assay sensitivity were 20.37%, 18.92% and specificity were 93.41%, 92.77%. In detection of MP infection, rapid culture sensitivity was 37.70% and specificity was 89.85%. **Conclusion** Rapid detection of respiratory influenza virus, MP infection sensitivity is low, only as a supplementary means of indirect immunofluorescence assay clinically.

Key words: rapid detection methods; influenza virus; Mycoplasma pneumoniae

呼吸道感染是呼吸内科 1 种常见疾病, 由于抗菌药物滥用、人口老龄化等多种原因的影响, 临床由病毒及多种病原体引起的呼吸道感染呈逐年上升趋势。感染后患者主要表现为浑身乏力、咳嗽、肌肉关节酸痛等, 但无特征性临床症状^[1-2]。临床目前多采用血清学抗体检查来检测病毒和病原体感染, 其敏感度及特异性高, 检出效果得到临床认可。但是血清学检查操作复杂, 对人员要求高, 检测时间长, 基层推广困难, 且易延误患者病情^[3]。因此, 操作简单、敏感度高、检测速度快的呼吸道病毒以及病原体检测方法对临床呼吸道患者的诊断及治疗具有重要意义。近年来利用鼻咽分泌物进行快速检测的方法, 成为呼吸道感染的研究热点^[4]。本研究以间接免疫荧光法检测血清病原体抗体 IgM 结果作为金标准, 胶体金免疫沉积法检测患者鼻咽分泌物中的 A、B 型流感病毒, 采用快速培养法检测肺炎支原体, 以探讨快速检测方法在呼吸道流感病毒、肺炎支原体检测的临床应用价值, 现将研究结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取本院 2011 年 1 月至 2015 年 12 月收集

的 386 例上呼吸道感染患者作为研究对象, 采集患者的鼻咽分泌物, 其中, 男 204 例, 女 182 例; 年龄 18~79 岁, 平均 (51.8±14.0) 岁; 基础疾病构成: 肺炎 181 例, 急性支气管炎 92 例, 哮喘急性发作 42 例, 支气管扩张合并感染 14 例, 慢性阻塞性肺急性加重期 57 例。所有患者在采集鼻咽部标本前均未使用抗菌药物治疗, 本研究获得患者的知情同意; 排除伴有其他部位感染的患者, 排除人类免疫缺陷病毒感染的患者。

1.2 方法 (1) 胶体金免疫层析法: 分别向流感病毒 A 型和流感病毒 B 型检测试纸卡中加裂解液 (含有鼻或咽分泌物) 4 滴, 大约 15 min 后观察结果。阳性: 检测区和质控区均出现红线; 阴性: 质控区出现红线。检测试剂盒由广州万孚生物有限公司提供。(2) 快速培养法: 在有肺炎支原体增殖的培养基中, 葡萄糖被分解成酸, 培养基 pH 值下降。将培养瓶 (混有鼻或咽分泌物) 置于恒温培养箱, 并于 48 h 后, 观察结果。阳性: 培养基仍清晰透亮, 颜色变为绿色或者淡黄色; 阴性: 不清晰或者颜色不发生变化为阴性。若培养基出现浑浊或存在絮状物, 则视为无效。培养基由河北微拉生物科技有限公司提

供。(3)间接免疫荧光法测定血清病原体抗体 IgM:采集患者静脉血 3 mL,3 000 r/min 离心 10 min,取血清,磷酸盐缓冲液 1∶1 进行稀释,阴、阳性对照试验无需稀释。采用间接免疫荧光法对儿童嗜肺军团菌、肺炎支原体、肺炎衣原体、腺病毒、流感病毒 A 型、流感病毒 B 型、呼吸道合胞病毒、副流感病毒进行检测。

1.3 统计学处理 用 SPSS13.0 统计软件分析处理数据,计量资料采用 $\bar{x}\pm s$ 表示,敏感度=筛检试验阳性人数/确诊阳性人数×100%,特异性=筛检试验阴性人数/确诊阴性人数×100%,误诊率=1-特异性,漏诊率=1-敏感度;一致性分析采用 kappa 检验,0~<0.20 极低的一致性,≥0.20~<0.40 一般的一致性,≥0.40~<0.60 中等的一致性,≥0.60~<0.80 高度的一致性和 ≥0.80~<1.00 几乎完全一致。 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结 果

快速检测方法的诊断价值评价,见表 1~4。结果显示,间接免疫荧光法共检出 A 型流感病毒感染患者 54 例(13.59%);检出 B 型流感病毒感染患者 37 例(9.59%);检出肺炎支原体感染患者 61 例(15.80%)。胶体金免疫沉积法检出 A 型流感病毒感染的敏感度为 20.37%,特异性为 92.77%,漏诊率为 79.63%,误诊率为 7.23%,诊断与间接免疫荧光法结果的一致性 kappa 为 0.151。胶体金免疫沉积法检出 B 型流感病毒感染的敏感度为 18.92%,特异性为 93.41%,漏诊率为 81.08%,误诊率为 6.59%,诊断结果与间接免疫荧光法结果的一致性 kappa 为 0.135。快速培养法检出肺炎支原体感染的敏感度为 37.70%,特异性为 89.85%,漏诊率为 62.30%,误诊率为 10.15%,诊断结果与间接免疫荧光法结果的一致性 kappa 为 0.285。

表 1 胶体金免疫沉积法检出 A 型流感病毒与间接免疫荧光法结果比较(n)			
胶体金免疫沉积法	间接免疫荧光法		合计
	阳性	阴性	
阳性	11	24	35
阴性	43	308	351
合计	54	332	386

表 2 胶体金免疫沉积法检出 B 型流感病毒与间接免疫荧光法结果比较(n)			
胶体金免疫沉积法	间接免疫荧光法		合计
	阳性	阴性	
阳性	7	23	30
阴性	30	326	356
合计	37	349	386

表 3 快速培养法与间接免疫荧光法结果比较(n)			
快速培养法	间接免疫荧光法		合计
	阳性	阴性	
阳性	23	33	56
阴性	38	292	330
合计	61	325	386

表 4 诊断学评价指标					
检测指标	敏感度(%)	特异性(%)	漏诊率(%)	误诊率(%)	kappa
A 型流感病毒	20.37	92.77	79.63	7.23	0.151
B 型流感病毒	18.92	93.41	81.08	6.59	0.135
肺炎支原体	37.70	89.85	62.30	10.15	0.285

3 讨 论

由流感病毒及非典型病原体引起呼吸道感染是临床常见病,常具有潜伏期短和起病急骤的特点,而且多为混合型感染^[5]。其初期临床症状与细菌引起的感染相似,无特异性表现,临床常造成抗菌药物滥用现象,且延误患者治疗。早期、快速病原学检查以确定病因,是选择合理、有效治疗方法的前提,对患者诊断治疗以及疫情发展具有重要意义^[6-7]。本研究以间接免疫荧光法检测血清病原体抗体 IgM 结果作为金标准,以探讨快速检测方法在呼吸道流感病毒、肺炎支原体检测的临床应用价值。

3.1 间接免疫荧光法 9 种 IgM 测定 机体感染病原体后即产生 IgM 抗体,若血清中检测出 IgM,则可说明机体感染。间接免疫荧光法原理:待测样本中 IgM 抗体可与抗原发生特异性反应,形成抗原抗体复合物,其与荧光标记的人球蛋白抗体反应后着色。待测样品中未与抗原结合的抗体在洗涤时被冲洗掉,抗原抗体复合物着色后可在显微镜下观察,并对 IgM 抗体进行定性筛选^[8-9]。本研究结果显示,间接免疫荧光法对 A 型流感病毒感染检出率为 13.59%;B 型流感病毒感染检出率为 9.59%;肺炎支原体感染检出率为 15.80%。

3.2 胶体金免疫沉积法 在白磷、抗坏血酸、枸橼酸钠、鞣酸等还原剂作用下,氯金酸可以聚合成为具有特定大小的金颗粒,并在静电作用下成为稳定的胶体状态,将其称为胶体金^[10]。胶体金技术是 1 种新型免疫标记技术,建立在免疫金标技术和酶联免疫吸附试验基础上,将胶体金作为示踪剂标志物或者显色剂,可应用于抗原抗体反应。胶体金呈现红色并且肉眼可见,能够结合固相载体,作为 1 种指示物用于体外抗原或抗体的免疫检测^[11]。随着试纸条技术的发展,胶体金的使用操作方法越来越方便,可用于血液、尿液以及多种分泌物检查。其不需要特殊的仪器设备,也不需要专业人员,具有操作简单、携带方便、检出快等特点。但是胶体金免疫沉积法的检查敏感度低,且只能做定性检查^[12-13]。

本研究结果显示,胶体金免疫沉积法检出 A 型流感病毒感染的敏感度为 20.37%,特异性为 92.77%,漏诊率为 79.63%,误诊率为 7.23%,诊断结果与间接免疫荧光法结果的一致性 kappa 为 0.151;胶体金免疫沉积法检出 B 型流感病毒感染的敏感度为 18.92%,特异性为 93.41%,漏诊率为 81.08%,误诊率为 6.59%,诊断结果与间接免疫荧光法结果的一致性 kappa 为 0.135。结果说明单独使用胶体金免疫沉积法进行检测虽然对 2 种流感病毒具有较高的特异性,但其敏感度太低,漏诊率较高,无法单独作为流感病毒的检测标准,可以作为间接免疫荧光法的辅助检测或者与其他检测方法联合使用。

3.3 快速培养法 快速培养法原理:肺炎支原体分解培养基中的葡萄糖产生酸性物质,使培养基 pH 值下降,造成培养基

液体中的指示剂颜色发生改变。培养基中含有青霉素和醋酸铊能够抑制样本中其他支原体和细菌^[14-15]。本研究结果显示,快速培养法检出肺炎支原体感染的敏感度为 37.70%,特异性为 89.85%,漏诊率为 62.30%,误诊率为 10.15%,诊断结果与间接免疫荧光法结果的一致性 kappa 为 0.285。肺炎支原体快速培养法具有操作简便、快速、特异性高等优点,但其敏感度较低,单独使用效果不佳,可作为辅助检测或与其他方法联合使用。

综上所述,快速检测方法对呼吸道流感病毒、肺炎支原体检出的敏感度较低,临床上只能作为间接免疫荧光法检测的 1 种辅助手段。

参考文献

- [1] Mina MJ, Burke RM, Klugman KP. Estimating the prevalence of coinfection with influenza virus and the atypical bacteria *Bordetella pertussis*, *Chlamydia pneumoniae*, and *Mycoplasma pneumoniae*[J]. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2014, 33(9):1585-1589.
- [2] 刘小花, 陈华根. 老年呼吸道疾病患者呼吸道非典型病原体 IgM 抗体检测结果分析[J]. *检验医学与临床*, 2015, 12(2):209-210.
- [3] 刘凤霞. 快速检测在成人呼吸道病毒及非典型病原体检测中的应用效果[J]. *中国现代医生*, 2015, 53(22):113-115.
- [4] Del PP, Abarca K, Concha I, et al. Concordance of nasal swabs and nasopharyngeal swabs in the detection of respiratory viruses by direct immunofluorescence[J]. *Revista Chilena De Infectologia Organo Oficial De La Sociedad Chilena De Infectologia*, 2014, 31(2):160-164.
- [5] 邓小凤. 快速培养法和 PCR 法在儿童支原体肺炎中诊断中的应用研究[J]. *现代诊断与治疗*, 2014, 25(23):5387-5388.

(上接第 178 页)

- antigens[J]. *Cell Mol Immunol*, 2006, 3(2):97-106.
- [4] 周琴, 郜玉峰, 赵小苗, 等. IL-4 基因多态性与 HBV 遗传易感性的研究[J]. *中华疾病控制杂志*, 2014, 18(10):968-971.
- [5] 中华医学会肝病学分会, 中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2010)年版[J]. *中华内科杂志*, 2011, 27(1):7-9.
- [6] 刘宁, 徐杰, 刘金花, 等. 慢性乙型肝炎、乙型肝炎肝硬化、乙型肝炎患者 Th1/Th2 型细胞因子水平变化研究[J]. *胃肠病学和肝病杂志*, 2014, 23(2):158-161.
- [7] 姚思敏, 袁静, 张帆, 等. 乙型肝炎病毒基因分型与临床及 TH1/TH2 细胞因子相关性[J]. *中华实验和临床病毒学杂志*, 2010, 24(6):439-441.
- [8] 罗琼, 李景平. IL-12 的表达与细胞因子 IFN- γ 、IL-4 在 HBV 宫内感染的相关性[J]. *山西医科大学学报*, 2013,

- [6] Allen EK, Koepfel AF, Hendley JO, et al. Characterization of the nasopharyngeal microbiota in health and during rhinovirus challenge[J]. *Microbiome*, 2014, 2(1):22.
- [7] 李新, 岳兴华. 肺炎支原体的快速液体培养与血清法的联合应用探讨[J]. *吉林医学*, 2015, 31(18):4036-4037.
- [8] 许莉莉, 程邦宁, 刘慧娟, 等. 9 693 例呼吸道感染患儿非典型病原体感染病原学检测结果分析[J]. *中华疾病控制杂志*, 2014, 18(2):178-180.
- [9] 童春堂, 车晓宇, 李雪辉, 等. 呼吸道感染 488 例非典型病原体及病毒 IgM 抗体检测分析[J]. *解放军医药杂志*, 2014, 26(2):87-90.
- [10] Miyashita N, Kawai Y, Tanaka T, et al. Diagnostic sensitivity of a rapid antigen test for the detection of *Mycoplasma pneumoniae*: comparison with real-time PCR[J]. *J Infect Chemother*, 2015, 21(6):473-475.
- [11] 童春堂. 成人呼吸道病毒及非典型病原体快速检测的临床研究[D]. 太原:山西医科大学, 2014.
- [12] 章建伟, 王卓英, 钟永兴. 3 788 例 0~5 岁婴幼儿急性呼吸道肺炎支原体感染分析[J]. *中华全科医学*, 2015, 13(2):175-177.
- [13] Jin C, Wu N, Peng X, et al. Comparison of a new gold immunochromatographic assay for the rapid diagnosis of the novel influenza A(H7N9) virus with cell culture and a real-time reverse-transcription PCR assay[J]. *Biomed Res Int*, 2014, 30(1):425-451.
- [14] 苑鑫, 金欣, 牛文凯, 等. 肺炎支原体肺炎快速评分法对社区获得性肺炎病原学的辅助诊断价值[J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2015, 38(7):497-500.
- [15] 陈倩, 王会中, 郭燕菊, 等. 肺炎支原体实验室检测方法研究进展[J]. *现代生物医学进展*, 2014, 14(16):3181-3183.

(收稿日期:2016-09-02 修回日期:2016-10-21)

- 44(8):645-648.
- [9] 李曼, 孙学华, 周振华, 等. 慢性乙型肝炎病毒感染者外周血 T 细胞 γ 干扰素和白细胞介素 4 的水平变化[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2016, 32(2):240-244.
- [10] 施文娟, 成军. HBV 相关慢加急性肝功能衰竭患者血清 IL-4 和 IL-10 的表达及临床意义[J]. *中华实验和临床感染病杂志(电子版)*, 2013, 7(2):251-254.
- [11] Saxena R, Chawla YK, Verma I, et al. Effect of IL-12B, IL-2, TGF- β 1, and IL-4 polymorphism and expression on hepatitis B progression[J]. *J Interferon Cytokine Res*, 2014, 34(2):117-128.
- [12] Jiang H, Harris MB, Rothman P. IL-4/IL-13 signaling beyond JAK/STAT[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2000, 105(6 Pt 1):1063-1070.

(收稿日期:2016-09-03 修回日期:2016-10-22)