

• 临床研究 •

PCR 结合酶联免疫吸附试验用于肺炎支原体感染检验价值评价

顾秀玉

(江苏省苏州市立医院北区检验科 215008)

摘要:目的 研究分析聚合酶链反应(PCR)结合酶联免疫吸附试验(ELISA)用于肺炎支原体(MP)感染检验的价值。方法 本次研究行回顾性调查法,采集 126 份 MP 标本,分别采用 PCR 和 ELISA 对每个标本的 MP 进行检测,对比记录各组标本的检出阳性率,分析两种方法结合使用进行检验的效果。结果 对于 MP 的检验,ELISA 与 PCR 的阳性检出率分别 82.5%、81.0%,阴性检出率分别为 17.5%、19.0%,两组对比差异无统计学意义($P>0.05$);两组结合使用的阴、阳性检出率分别为 25.6%、99.3%。结论 对于 MP 检测而言,PCR 与 ELISA 对其的敏感性与特异性均较理想,两者联合可提高阳性检出率,有利于支原体肺炎疾病的早期诊断与治疗。

关键词:聚合酶链反应; 酶联免疫吸附试验; 肺炎支原体; 联合应用

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.23.054 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2016)23-3364-02

近年来,肺炎支原体(MP)感染率有增长的趋势,尤其在儿童中的感染率^[1]。MP 的传播途径主要为呼吸道,可引发多种呼吸道疾病,甚至引起全身机体的损害。患者感染 MP 可出现支原体肺炎的症状,也可出现上呼吸道感染的症状,如支气管炎、气管炎、咽炎等。MP 的感染与发生在神经系统、血液系统、运动系统等疾病相关,并可间接引发肾炎性肾病、急性肾炎等,患者可并发现心包炎、心肌炎、心功能衰竭。因此,临床上需对 MP 患者尽早进行检查确诊,但目前尚无公认的快速准确检测方法^[2]。本文围绕 PCR 结合酶联免疫吸附试验(ELISA)用于 MP 感染检验的价值展开讨论,取得了较为满意的结果,现具体结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 以 2015 年 1~12 月本院收治的 126 例 MP 感染患者为对象实施研究方案。患者年龄 4 个月至 13 岁,平均(7.2±2.6)岁。临床症状表现为发热咳嗽,用磺胺类或 β 内酰胺类药物治疗无效,使用大环内酯类药物后表现为有效,符合 MP 感染诊断标准^[3]。并同时采集 126 例普通细菌性肺炎标本作为对照组。

1.2 纳入标准 (1)X 线片结果显示存在间质改变或片状浸润性阴影,或伴有出现胸腔积液;(2)支原体抗体的效价在急性期与恢复期以 4 倍及以上上升。

1.3 方法

1.3.1 标本采集 标本均在患者入院当天采集,采集方法为静脉取血,并立即对血清进行分离。具体采集方法如下:选用支气管肺灌洗液法(BALF),纤支镜型号为 Olympus-P30,在麻醉与术前准备工作完成后,清除患者段支气管处的开口处痰液、分泌物、局麻所用药物。随后,在目标支气管开口将纤支镜嵌入,若目标支气管已完全阻塞,则将纤支镜改为向目标支气管的上方嵌入或对着目标支气管的开口处进行冲洗。在灌洗瓶的端口接上负压吸引器与纤支镜,随后中断负压,并叮嘱患

者降低呼吸幅度,在活检孔中注入 20 mL 的生理盐水(其温度与人体正常体温相同),当即开始负压吸引。将纤支镜上提合适的角度,使液体可以顺利回收,重复 3 次。将回收所得的 BALF 保存于无菌器皿中,本研究标本的平均回收率为 46.2%(41%~64%)。最后将 BALF 进行离心操作,取上清液并置于一 20℃ 的冰箱内保存。

1.3.2 ELISA 对标本血清内的 MP-IgM 进行检测,试剂盒产自深圳安群生物技术专业公司,所有操作均按说明书实施。具体操作步骤如下:所用反应板被单克隆 MP 抗原包裹,随后在其中置入待测标本,并同时置入 MP 抗原。若待测标本中含有 MP 抗体,会与抗体结合形成抗原抗体复合物,出现显色反应,反之,则无明显变化。

1.3.3 PCR 所用全自动的 PCR 分析仪产自 Perkin Elmer(型号为 PE 5700),试剂盒产自达安基因股份有限公司。将 DNA 模板、PCR mix、TAQ 以一定比例混合。预反应在 93℃ 的温度下反应 2 min,再在 93℃、45 s、55℃、55 s 范围下循环各 10 次,最后在 93℃、30 s、55℃、45 s 范围下循环各 30 次。根据 PCR 过程中释放的荧光反映产物剂量,将荧光转化为 DNA 模板剂量,并判断结果。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件进行分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 比较,比较采用 t 检验,计数资料以率表示,比较采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两种方法检测结果 对于 MP 的检验,ELISA 与 PCR 的阳性检出率分别 82.5%、81.0%,阴性检出率分别为 17.5%、19.0%,两组结合使用的阴、阳性检出率分别为 25.6%、99.3%。两组对比差异无统计学意义($P>0.05$)。但与非 MP 感染的结果比较,两种方法检出率均具有明显优势,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

表 1 两种方法检测结果[n(%)]

组别	n	ELISA		PCR		ELISA+PCR	
		阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性
MP 感染	126	104(82.5)	22(17.5)	102(81.0)	24(19.0)	3(2.3%)	123(97.62%)
非 MP 感染	126	10(7.94)	116(92.1)	1(0.79)	125(99.2)	0(0)	126(100.00%)

2.2 两种方法敏感性与特异性对比 两种方法在敏感性与特异性对比上,差异无统计学意义($P>0.05$)。但是两种方法联合使用的差异较单独利用一种方法的检测效果更为明显。因此,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

表 2 两种方法敏感性与特异性对比(%)		
方法	敏感性	特异性
ELISA	82.5	17.5
PCR	81.0	19.0
ELISA+PCR	99.3	26.9
<i>P</i>	>0.05	>0.05

3 讨 论

支原体是目前发现的存在于细胞外的最小微生物,可从人体中分离 5 种致病性的支原体^[4]。MP 即原发性非典型肺炎,可发生于全年,尤其在冬季的发病率最高,或可产生流行性发病。其传播途径主要为呼吸道传播,且在人体内的潜伏可达 14~21 d,潜伏期较长^[5]。其常见的检测方法有间接血凝试验、冷凝集试验、被动凝集法、ELISA 等,即 MP 的分离与培养、PCR、血清学检查。MP 的分离培养检测法是最为理想的方法,所提供的确诊依据最为可靠,但由于临床所采集的标本病原体含量较少、其他杂菌数量较多、阳性率低、费时等缺点无法得以普及。而血清学检查中的 ELISA 是最为常见的检测方法。当患者感染 MP 时,体内最早出现的抗体为抗 MP-IgM 抗体,在感染后 7 d 即可测出,于 10~30 d 数量最多,在 12~16 周逐渐消失^[6-8]。因此,抗 MP-IgM 抗体是临床上早期诊断 MP 感染的有力依据。而 PCR 是基于模板 DNA 理论进行定量检测,其主要作用原理为测定目标的核酸剂量来间接反映菌数,突出优点为大大缩短了检测时间,并可降低模板间的稀释浓度来提高准确性。但传统 PCR 的敏感性与特异性欠佳,因此本研究采用的肺泡来源于目标器官即肺灶处的肺泡,从而可降提高阳性检出率。

本文研究结果显示,ELISA 对 MP-IgM 抗体的敏感性与特异性均较高,分别为 82.5%、17.5%。两种方法联合使用进行检测时发现敏感性达到 99%以上,特异性为 25%以上。但

• 临床研究 •

其结果会受较因素干扰,如抗体的峰值出现较晚等。因此,单份血清所得结果可靠性较低,需增加标本数量。同时,重症患者体内不存在特异性抗体,会使检测结果失效。因此,单纯使用 ELISA 进行检测会使结果存在假阴性与假阳性。而 PCR 结果显示敏感性与特异性分别为 81.0%、19.0%,与 ELISA 差别不大,说明两者结合使用可提高阳性检出率。但是两种方法联合使用的差异较单独利用一种方法的检测效果更为明显。因此,存在差异有统计学意义($P<0.05$)。

综上所述,对于 MP 检测而言,PCR 与 ELISA 对其的敏感性与特异性均较理想,两者联合可提高阳性检出率,有利于支原体肺炎疾病的早期诊断与治疗。

参考文献

[1] 邵天波,余丽萍,朱继蕊.两种肺炎支原体感染检测方法的临床效果比较[J].山东医药,2008,48(48):97-98.
[2] 王贵年,马进强,苏艾云.肺炎支原体感染的实验室诊断进展[J].诊断学理论与实践,2009,8(4):458-460.
[3] 狄为民,刘长山.支原体感染和多系统损害[J].医学综述,2004,10(1):30-31.
[4] 王俊,韩晓华.肺炎支原体抗体肺炎的免疫学发病机制[J].中华医学研究杂志,2004,4(1):35-37.
[5] 张具良.成人支原体肺炎 56 例临床分析[J].中国医药指南,2011,9(24):283-284.
[6] 李雪辉,陈杭薇,魏娟,等.冬季成人急性呼吸道疾病住院患者肺炎支原体抗体检测及分析[J].临床肺科杂志,2012,17(8):1359-1361.
[7] 陈艳露,宋俊杰,梁红玉,等.1293 例肺炎支原体抗体血清学检测结果分析[J].国际检验医学杂志,2013,34(18):2470-2471.
[8] You-Sook Youn,Kyung-Yil Lee. Mycoplasma pneumoniae pneumonia in child-ren[J]. Korean J Pediatr,2012,55(2):42-47.

(收稿日期:2016-06-19 修回日期:2016-09-09)

胱抑素 C 对肾损伤的诊断价值

梁学金

(江苏省高邮市中西医结合医院检验科,江苏扬州 225600)

摘 要:**目的** 分析及评估应用血清半胱氨酸蛋白酶抑制剂 C(简称胱抑素 C)诊断肾损伤的价值。**方法** 选取 2015 年 1 月至 2016 年 3 月该院收治的肾损伤的患者 60 例为观察组,再选取同期在该院进行健康体检的 60 例受检者为对照组。所有受检者均采用乳胶增强免疫比浊法检测血清胱抑素 C 的水平并进行对比分析。**结果** 观察组受检者胱抑素 C 的水平为(2.61±1.23)mg/L,对照组受检者胱抑素 C 的水平为(0.87±0.98)mg/L,差异有统计学意义($P<0.05$);随着肾损伤程度的加重,胱抑素 C 水平不断上升,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 肾损伤时,胱抑素 C 的水平会显著升高,且胱抑素 C 水平与肾损伤程度呈正相关,在诊断和评估肾损伤中具有重要的临床价值,值得推广应用。

关键词:肾损伤; 血清半胱氨酸蛋白酶抑制剂 C; 诊断价值

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.23.055 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2016)23-3365-03

肾脏是机体分泌尿液、排泄废物和毒物的重要器官,经常憋尿、饮水过少、暴饮暴食、滥用镇痛西药等不良的生活习惯可损害肾功能,而糖尿病、高血压、高龄、心功能不全、血流动力学不稳定、贫血、肝病及严重感染均是肾损伤的主要危险因素^[1]。