

化学发光法检测肺炎衣原体抗体的性能评估

周 湧,李慧敏,李夏萌

(东莞市第五人民医院检验科,广东东莞 454002)

摘要:目的 探讨化学发光法(CLIA)检测肺炎衣原体(CP)IgG 和 IgM 抗体的性能。方法 选择 2015 年 1 月至 2017 年 12 月在该院呼吸内科确诊的 200 例肺炎支原体(MP)患者作为观察组,选择同期在该院体检中心接受体检的 200 例体检健康者作为对照组,分别采用 CLIA、酶联免疫吸附测定(ELISA)以及间接免疫荧光(IIF)检测 CPIgG 和 IgM 抗体。评估 CLIA 检测 CPIgG 和抗体的最低检出限、批内精密度、批间精密度、线性范围、临床符合率以及与 ELISA 和 IIF 的一致性。结果 CLIA 对于 CPIgG 抗体的最低检测限为 0.01 AU/mL;线性范围为 3.0~200.0 AU/mL;CLSI 具有 2.15%~6.47%的批内 CV 和 3.17%~6.18%的批间 CV。相关性研究显示 CLIA 与 ELISA 检测 CPIgG 和 IgM 抗体的结果非常一致($Kappa$ 分别为 0.900 和 0.903,均 $P<0.001$),一致百分比分别为 85.0%和 85.5%。CLIA 与 IIF 法的 $Kappa=0.905(P<0.001)$,总体匹配率为 80.0%。结论 CLIA 检测 CP 抗体的各项指标符合临床要求,具有操作简便、精密度高等优点,临床上可以替代 ELISA 和 IIF 用于 CP 抗体的检测。

关键词:化学发光法;肺炎衣原体;性能评估

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.09.021

中图法分类号:R446.6,R563.1

文章编号:1673-4130(2019)09-1107-05

文献标识码:A

Chemiluminescence detection of Chlamydia pneumoniae antibody performance evaluation

ZHOU Yong, LI Huimin, LI Xiameng

(Department of Clinical Laboratory, the Fifth People's Hospital of Dongguan, Dongguan, Guangdong 454002, China)

Abstract: Objective To investigate the chemiluminescence immunoassay (CLIA) for the detection of Chlamydia pneumoniae (CP) IgG and IgM antibodies. **Methods** This study included 200 MP patients diagnosed in the Department of Respiratory Medicine from January 2015 to December 2017 as the observation group, and 200 healthy subjects who were examined at the physical examination center of the hospital during the same period as the control group. The CPIgG and IgM antibodies were detected by CLIA, enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) and indirect immunofluorescence technique (IIF), respectively. CLIA was tested for the CPIgG and antibody detection limits, the intra-assay precision, the inter-assay precision, the linear range, the clinical compliance, and the consistency with ELISA and IIF. **Results** The minimum detection limit of CLIA for CPIgG antibody was 0.01 AU/mL, the linear range was 3.0–200.0 AU/mL, the intra-assay CV was 2.15%–6.47%, and the inter-assay CV was 3.17%–6.18%. Correlation studies showed that the results of CLIA and ELISA for the detection of CPIgG and IgM antibodies were very consistent ($Kappa = 0.900, 0.903$, respectively, $P<0.001$), and the consistency percentages were 85.0% and 85.5%, respectively. $Kappa$ of CLIA and IIF method was 0.905 ($P<0.001$), and the overall matching rate was 80.0%. **Conclusion**

CLIA detection of CP antibodies meets the clinical requirements. It has the advantages of simple operation, high precision, and so on. Clinically, it can replace ELISA and IIF for the detection of CP antibodies.

Key words: chemiluminescence; Chlamydia pneumoniae; performance assessment

肺炎衣原体(CP)是社区获得性肺炎(CAP)中非常重要的非典型病原体之一^[1]。研究表明,CP可能诱发CAP患者的慢性咳嗽(CC)。CC是复发性和难治性呼吸系统疾病之一,导致CAP的延迟治愈。虽然,CAP通常不会产生严重的临床结局,但是如果迁

延不愈也可以引起多种器官的并发症,影响患者的生理和心理健康^[2]。另外,CAP通常也合并有其他的细菌感染^[3]。因此,发明快速而准确的实验室检测方法对于CP感染的早期诊断和早期治疗非常关键。目前,对于CP的实验室检测方法包括病原体分离培养

作者简介:周湧,男,副主任技师,主要从事临床检验方面的研究。

本文引用格式:周湧,李慧敏,李夏萌.化学发光法检测肺炎衣原体抗体的性能评估[J].国际检验医学杂志,2019,40(9):1107-1110.

法、直接检测法、荧光定量核酸扩增法(FQ-PCR)以及血清检测法。血清检测法又包括化学发光法(CLIA)、酶联免疫吸附测定(ELISA)以及间接免疫荧光(IIF)等。ELISA 实验步骤多,干扰环节多;IIF 只能检测 IgM,而目前对于 CLIA 在 CP 抗体检测中的作用却缺乏研究。本研究拟探讨化学发光法(CLIA)检测肺炎衣原体 IgG 和 IgM 抗体的性能,并且与 ELISA 和 IIF 相比较,以期为临床上采用这种方法早期诊断 CP 造成的 CAP 提供一定的理论依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择 2015 年 1 月至 2017 年 12 月在本院呼吸内科接受治疗的 200 例 CP 患者作为观察组,男 115 例,女 85 例,年龄 4~80 岁,平均(31.2±4.5)岁。纳入标准:(1)成人 CAP 感染符合中华医学会呼吸病学分会制定的《中国成人社区获得性肺炎诊断和治疗指南(2016 年版)》的相关诊断标准^[4]。(2)儿童 CAP 感染符合中华医学会儿科学分会呼吸学组制定的《儿童社区获得性肺炎管理指南(2013 修订)》中的相关诊断标准^[5];(3)临床上出现不同程度的发热、咳嗽、咳痰症状,可伴有呼吸困难、恶性呕吐等症状。(4)结合患者的血常规、肺部 X 线片、痰培养、血培养等相关辅助检查结果,确定诊断为社区获得性肺炎。(5)儿童 CAP 感染患儿年龄在 12 岁以下;(6)急性期患者,病程<3 d。(7)病情严重程度均为轻中度。(8)无严重心、肺、肝、肾功能不全。(9)患者知情同意,自愿参加本研究。排除标准:(1)合并其他病原体的肺部感染;(2)合并其他感染性疾病,如结核感染,或有结核病史等;(3)严重心、肺、肝、肾功能不全。(4)无法排除医院感染可能性的患者;(5)伴有免疫系统异常疾病的患者;(6)患者及家属不配合治疗,依从性差者。选择同期在本院体检中心接受体检的 200 例健康受试者作为对照组,男 112 例,女 88 例,年龄 5~78 岁,平均(30.50±5.3)岁。两组受试者的性别和年龄差异均无统计学意义。分离静脉血血清,于-20℃冰箱保存,第 1 次复溶后于 2~8℃冰箱保存,24 h 内完成试验。

1.2 检测试剂

CPIgG 和 CPIgM 抗体试剂(试剂批号分别为 20171205 和 20171207,亚辉龙生物科技股份有限公司,中国);CPIgG 和 CPIgM 抗体 ELISA 试剂盒(试剂批号分别为 ZK-H2323 和 ZK-H2325,美国 R&D 公司);CP 间接免疫荧光抗体(试剂批号 RD455645,美国 R&D 公司)。

1.3 检测设备

iFlash 3000 化学发光免疫分析仪(型号:FA6C-00000A64,亚辉龙生物科技股份有限公司,中国),Biotek 酶标仪(型号:CYT50-0000065, Molecular Devices,美国),Mikon E3600 荧光显微镜。

1.4 性能评估方法

参考美国临床和实验室标准化研究所(CLSI)^[6]制订的《体外诊断试剂性能分析指导原则》,检测 CPIgG 和 CPIgM 的性能检验指标包括:

最低检出限(LoD)、批内精密性、批间精密性、线性范围以及临床符合率。

1.4.1 最低检出限

参考 CLSI 的 EP17-A2 文件^[7]进行验证,以评价该方法的。选择低浓度梯度样本 5 份,重复测试 20 次,设定 II 类错误水平 β 错 5%,若数据呈正态分布,则采用参数方法估计 LoD,若呈非正态分布,则采用非参数方法估计 LoD。

1.4.2 精密性

精密性为评价测量中随机误差程度的指标。表达方式采用变异系数(CV),CV 越小,精密性越好。参考 CLSI 的 EP5-A 文件^[8]进行验证。批内精密性选择 CPIgG 和 IgM 各高低 2 个浓度水平的样本,1 d 内重复检测 20 次;批间精密性选择 CP-IgG 和-IgM 各高低 2 个浓度水平的样本,每个水平每天重复检测 4 次,共检测 5 d。

1.4.3 线性评价

参考 CLSI 的 EP6-A 文件^[6]进行验证,采用已知浓度为 3.0、30.0、40.0、50.0、60.0、100.0、200.0 AU/mL 的系列标准溶液,分别由测试产品测量。应用线性回归,使用已知浓度绘制数据 X 轴上的样本和 Y 轴上的测量平均值,两轴均以 10 为底的对数绘制坐标。测试产品的线性范围。

1.4.4 临床符合率

参考 CNAS-CL39 文件^[9]进行验证,选择确诊 CP 的阴性和阳性标本各 200 例,使用 CLIA 检测标本的 CPIgG 和 CPIgM 抗体。

1.5 统计学处理

统计分析使用 SPSS19.0 软件进行。线性范围通过线性回归分析计算。不同方法学之间的一致性程度通过 Kappa 检验评估,以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 最低检出限

测试产品用于测量稀释的梯度 L-系列标准品的浓度并产生标准剂量-反应曲线(图 1)。同时,0 AU/mL 标准溶液(空白参考)的样本在检测中独立检测 20 次。最低检测浓度的平均值为 0.009 2 AU/mL,低于 0.01 AU/mL。因此,CLIA 的 LoD 为 0.01 AU/mL。

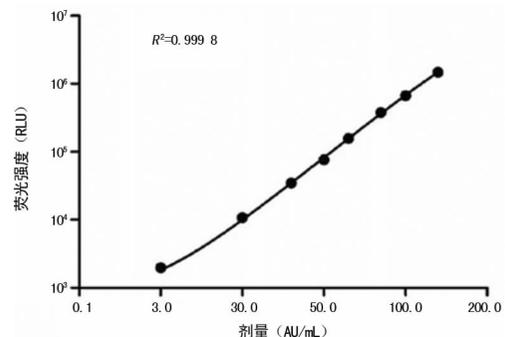


图 1 CLIA 法的标准剂量-反应曲线

2.2 精密性

如表 1、2 所示,CLIA 具有 2.15%~6.47%的批内 CV 和 3.17%~6.18%的批间 CV,表明 CLSI 的结果具有良好的重复性。

表 1 CLIA 检测 CP-IgG 抗体的精密度

实验天数	低浓度			高浓度		
	平均值(AU/mL)	范围(AU/mL)	批内 CV(%)	平均值(AU/mL)	范围(AU/mL)	批内 CV(%)
1	1.04	0.97~1.13	2.15	10.38	9.47~11.30	3.74
2	0.98	0.89~1.06	3.23	9.65	9.22~9.95	2.68
3	0.99	0.89~1.11	3.08	10.16	9.34~11.23	3.55
批间 CV(%)	3.17					3.72

表 2 CLIA 检测 CP-IgM 抗体的精密度

实验天数	低浓度			高浓度		
	平均值(COD)	范围(COD)	批内 CV(%)	平均值(COD)	范围(COD)	批内 CV(%)
1	1.33	0.97~1.43	5.06	10.32	8.33~11.33	6.47
2	1.45	1.15~1.54	5.13	9.67	8.33~9.33	4.93
3	1.33	1.14~1.43	5.44	10.33	9.37~11.96	5.72
批间 CV(%)	5.22					6.18

2.3 线性评价 当 CPIgG 抗体在 3.0~200.0 AU/mL 时,拟合曲线为 $Y = 0.9374X - 5.327$, $R^2 = 0.9934$,验证通过。见表 3。

表 3 CLIA 法检测 CPIgG 抗体的线性评价实验结果(AU/mL)

浓度点	实测值 1	实测值 2	实测值 3	实测均值	理论浓度
1	1.85	2.49	2.35	2.23	2.53
2	1.99	1.95	1.87	1.94	2.02
3	1.45	1.47	1.37	1.43	1.51
4	0.83	0.84	0.86	0.84	1.01
5	0.33	0.33	0.35	0.34	0.51
6	0	0	0	0	0

2.5 方法学之间的一致性

2.5.1 采用 CLIA 和 ELISA 分别检测 200 例样本的 CPIgG 和 CPIgM 抗体,通过 $Kappa$ 检验评估, $Kappa$ 分别=0.900 和 0.903(均 $P < 0.001$)。一致百分比分别为 85.0%和 85.5%,见表 4、5。

表 4 CLIA 与 ELISA 检测 CP-IgG 抗体的结果比较(n)

CLIA	ELISA		合计
	阴性	阳性	
阴性	114	27	141
阳性	3	56	59
合计	117	83	200

表 5 CLIA 与 ELISA 检测 CP-IgM 抗体的结果比较(n)

CLIA	ELISA		合计
	阴性	阳性	
阴性	70	21	91
阳性	5	104	109
合计	75	125	200

2.5.2 采用 CLIA 与 IIF 以不区分抗体类型检测 200 例样本的 CP 抗体,通过 $Kappa$ 检验评估, Kap

$pa = 0.905 (P < 0.001)$ 。一致百分比为 80.0%,见表 6。

表 6 CLIA 与 IIF 检测 CP 抗体的结果比较(n)

CLIA	IIF		合计
	阴性	阳性	
阴性	65	20	85
阳性	10	105	115
合计	75	125	200

3 讨 论

CP 于 1986 年首次发现,到 1989 年,CP 被确认为沙眼衣原体和鹦鹉热衣原体之后的第三种衣原体。CP 分布在全球各地,并通过气溶胶在人群中传播^[10-11]。CP 原发性感染 3 周后,即可检测到 IgM 抗体。在急性或既往感染患者的血清中可以检测到抗体。临床一般在第 2 周,第 3 周和第 6 周进行进一步的测试,以区分新感染与既往感染或慢性感染。因此,CP 感染后抗体的形成慢于其他病原体^[12]。CPIgG 抗体水平通常在再感染后 1~2 周升高,但有时候没有再感染也会升高。CPIgM 抗体水平在再感染时可能会稍微升高。

大约一半的 CP 感染患者无症状或仅有轻度咽痛。其他 CP 感染症状包括:持续性干咳、头痛和发热。CP 慢性感染在成人中更常见。超过 50%成人感染过 CP,产生 CP 抗体。CP 感染可诱导特异性 T 细胞免疫和 B 细胞免疫。抗体可能会暂时提供一定的免疫保护,但是其免疫力不够强,只能保持短暂时间,这在大多数情况下不能阻止再次感染反复发作。血清流行病学研究有表明 CP 感染 3~5 年后血清抗体会减少或消失^[13]。CP 特异度 IgM 和 IgG 抗体可以在健康者身上检测到,这表明存在健康的携带者。CP 是一种常见的人类呼吸系统感染性疾病病原体。近年来,CP 被发现与一些相关慢性疾病,包括支气管哮

喘、冠心病疾病和动脉粥样硬化,以及一些比较罕见的疾病,如脑膜炎、心肌炎和格林巴利综合征有关。最近的临床研究也发现,CP 抗体检测结果较高的患者更有可能存在多种全身性疾病,包括咽炎、喉炎、鼻炎、鼻窦炎、结节病、恶性淋巴瘤、多发性硬化症、老年痴呆症、肺癌、早产和胎膜早破^[3-4,13]。CP 已成为一种严重危害人类的病原体,因此引起越来越多的学者的关注。

《医学实验室质量和能力认可准则》中规定,对开展某一新的检测项目,更换检测系统或仪器或改变检测试剂盒生产商时,实验室需要对其相关方法学分析性能予以验证,对厂商提供的评价资料中的主要性能予以确认。因此,本研究根据由 CLSI 制订的《体外诊断试剂性能分析指导原则》,在检测 CPIgG 和 CPIgM 的性能检验指标选择最低检出限、批内精密度、批间精密度、线性范围以及临床符合率。CLSI 检测 CPIgG 的最低检测限为 0.01 AU/mL,临床应用可接受。CLSI 检测 CPIgG 与 CPIgM 的批内、批间精密度较小,表明 CLSI 检测 CP 分型抗体的结果具有良好的重复性。CLIA 检测 CPIgG 抗体在 3.0~200.0 AU/mL 线性范围内,拟合曲线符合 $R^2 \geq 0.990$, $0.85 < b < 1.15$,表明 CLIA 检测 CPIgG 的线性范围良好。

根据一致性强度的判定标准: $Kappa$ 值为正数,而且 $Kappa$ 值越大,一致性越好。 $Kappa \geq 0.75$,表明一致性良好; $0.40 \leq Kappa < 0.75$,表明一致性一般; $Kappa < 0.40$,表明一致性较差^[14]。本研究结果显示,CLIA 和 ELISA 检测 CPIgG 和 CPIgM 抗体的 $Kappa$ 分别为 0.900 和 0.903。一致百分比分别为 85.0% 和 85.5%,表明 CLIA 和 ELISA 检测 CPIgG 和 CPIgM 抗体的一致性较好。另外,CLIA 与 ELISA 检测 CPIgG 及 CPIgM 抗体阳性率结果存在差异,其原因可能主要来源于不同季节、不同人群以及患者处在不同的感染阶段,均可导致阳性率的差异。此外,CLIA 和 IIF 检测 CP 抗体的 $Kappa$ 为 0.905 ($P < 0.001$)。一致百分比为 80.0%,表明 CLIA 和 ELISA 检测 CP 抗体也具有较好的一致性。

自发明以来,CLIA 已广泛应用于临床诊断和环境分析^[15]。在最初阶段,CLIA 通常使用化学发光指示剂^[16],如异鲁米诺,吖啶酯等,直接标记抗原(抗体)。尽管 CLIA 技术提高了免疫分析的灵敏度,化学发光的直接标记指标受到相对较短的发光持续时间的限制,所以它的应用需要机器来协助。因此,近年来发明了基于化学发光的酶-抗体缀合物底物和发光计用于测量抗体的水平,具有较高的灵敏度和更大的检测线性范围^[17-23]。

4 结 论

CLIA 检测 CP 抗体的各项指标符合生产厂家的

声明和临床要求。CLIA 法具有操作简便、灵敏度高、特异度强、精密度高、检测范围宽等优点,临床上可以替代 ELISA 和 IIF 用于 CP 抗体的检测。

参考文献

- [1] PRINCIPI N, ESPOSITO S. Emerging role of *Mycoplasma pneumoniae* and *Chlamydia pneumoniae* in paediatric respiratory-tract infections[J]. Lancet Infect Dis, 2001, 1(5):334-344.
- [2] HUONG P T, HIEN P T, LAN N T, et al. First report on prevalence and risk factors of severe atypical pneumonia in Vietnamese children aged 1-15 years[J]. BMC Public Health, 2014, 14(1):1304.
- [3] YANTING W, WANG S. Correlation analysis of chronic cough with *Mycoplasma pneumoniae* and *Chlamydia pneumoniae* infection in children[J]. Health Horiz, 2013, 21(10):41-42.
- [4] 中华医学会呼吸病学分会. 中国成人社区获得性肺炎诊断和治疗指南(2016 年版)[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2016, 39(4):253-279.
- [5] 中华医学会儿科学分会呼吸学组,《中华儿科杂志》编辑委员会. 儿童社区获得性肺炎管理指南(试行)(上)[J]. 中华儿科杂志, 2007, 45(10):83-90.
- [6] Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures: EP6-A[S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2003.
- [7] Clinical and Laboratory Standards Institute. Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guideline-Second Edition; EP17-A2E [S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2012.
- [8] Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of precision performance of quantitative measurement methods: EP5-A[S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2004.
- [9] 龚亚东, 马庆庆, 林牧. 儿童肺炎支原体感染 3 种检测方法对比分析[J]. 现代医药卫生, 2017, 33(2):251-253.
- [10] 王良玉, 辛德莉. 肺炎支原体感染实验室诊断的研究进展[J]. 传染病信息, 2017, 30(1):51-55.
- [11] 谢红梅, 胡必杰, 马艳, 等. 1647 例呼吸道感染病原体的 IgM 抗体检测结果分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2012, 22(12):2696-2698.
- [12] 刘志广, 齐海宇, 郑晓燕, 等. 发热门诊呼吸道感染患者中的肺炎衣原体感染调查(英文)[J]. 中国人兽共患病学报, 2015, 30(5):418-422.
- [13] 安娜, 陈曦, 刘运双, 等. 儿童非典型呼吸道病原体感染与维生素 D 水平的相关研究[J]. 重庆医学, 2017, 46(20):2788-2790.
- [14] 胡利清, 周玉球, 吴洪秋. 肺炎衣原体抗体两种检测方法的对比分析[J]. 实验与检验医学, 2017, 35(2):269-270.
- [15] 杜爽, 邱琳, 李海珠, 等. 儿童肺炎衣原体肺炎的发病原因与临床特点[J]. 医学新知, 2017, 27(2):170-170.
- [16] 廖嘉仪, 张涛. 13198 例急性呼吸道感染(下转第 1113 页)

($P < 0.05$), 但 FSH 水平差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。提示 GnRH 泵可有效改善患者的激素分泌水平, 通过补充患者缺乏的 GnRH 调节性激素分泌。进一步比较患者治疗前后外生殖器变化可知, 治疗后患者平均睾丸体积、阴茎静息长度和阴茎牵长显著提高 ($P < 0.05$)。表明通过调整激素分泌水平在青春期时可快速促进外生殖器发育至正常水平。有研究报道称血清骨钙素水平与 IHH 的发生和发展存在相关性^[11-12] 且 GnRH 治疗可能导致骨质疏松^[13-14]。本研究发现, 治疗后 ALP 和骨钙素水平显著低于治疗前患者, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 但仅有 2 例患者出现骨质疏松。提示, 使用 GnRH 治疗青春期 IHH 患者安全可靠。不会严重影响患者的骨代谢水平。除骨质疏松外, 本研究未见其他 GnRH 治疗相关不良反应。

4 结 论

GnRH 治疗对特发性低促性腺激素性性腺功能减退症患者内分泌功能有良好调节作用且安全可靠, 无明显不良反应。

参考文献

[1] ZHANG R, LINPENG S, LI Z, et al. Deficiency in GnRH receptor trafficking due to a novel homozygous mutation causes idiopathic hypogonadotropic hypogonadism in three prepubertal siblings[J]. *Gene*, 2018, 669(30): 42-46.

[2] WANG Y, GONG C, QIN M, et al. Clinical and genetic features of 64 young male paediatric patients with congenital hypogonadotropic hypogonadism[J]. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2017, 87(6): 757-766.

[3] TANG R, CHEN R, MA M, et al. Clinical characteristics of 138 Chinese female patients with idiopathic hypogonadotropic hypogonadism[J]. *Endocr Connect*, 2017, 6(8): 800-810.

[4] 茅江峰, 王曦, 于冰青, 等. 成人发生的特发性低促性腺激素性性腺[J]. *中华医学杂志*, 2018, 98(20): 1597.

[5] RASHID O, RAM N, FAROOQ S, et al. Idiopathic hy-

pogonadotropic hypogonadism reversal after testosterone replacement in a 34-year-old male[J]. *BMJ Case Rep*, 2017(8): 671-677.

[6] BAYRAM F, ELBUKEN G, KORKMAZ C, et al. The effects of gonadotropin replacement therapy on metabolic parameters and body composition in men with idiopathic hypogonadotropic hypogonadism[J]. *Horm Metab Res*, 2016, 48(2): 112-117.

[7] SANYAL D, CHATTERJEE S. Treatment preferences and outcome in male hypogonadotropic hypogonadism: an Indian perspective[J]. *Andrologia*, 2016, 48(5): 601-602.

[8] CONTE B, DEL M L. Gonadotropin-releasing hormone analogues for the prevention of chemotherapy-induced premature ovarian failure in breast cancer patients[J]. *Minerva Ginecol*, 2017, 69(4): 350.

[9] 朱通, 李彦锋, 廖良功, 等. 促性腺激素释放激素泵治疗成年男性特发性低促性腺激素性性腺功能减退症的临床疗效与安全性观察[J]. *中华生殖与避孕杂志*, 2017, 37(4): 261-267.

[10] 刘兆祥, 茅江峰, 伍学焱, 等. GnRH 泵治疗女性特发性低促性腺激素性性腺功能减退症的有效性和安全性[J]. *中华医学杂志*, 2015, 95(42): 3432-3435.

[11] 孙超, 孙发, 邢俊平, 等. 血清骨钙素水平与低促性腺激素性性腺功能减退症相关性研究[J]. *贵阳医学院学报*, 2015(4): 342-345.

[12] 周志红, 刘丽, 赵小媛, 等. 中枢性性早熟女童 GnRH α 治疗前后骨代谢生化指标及骨密度变化的研究[J]. *国际医药卫生导报*, 2014, 20(18): 2790-2792.

[13] FINKELSTEIN J S, KLIBANSKI A, NEER R M, et al. Increases in bone density during treatment of men with idiopathic hypogonadotropic hypogonadism[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 1989, 69(4): 776-783.

[14] MACUT D, MICIC D, ZORIC S, et al. Decrease of serum leptin levels in adult male with idiopathic hypogonadotropic hypogonadism (IHH) treated with pulsatile gonadotropin-releasing hormone (GnRH)[J]. *J Endocrinol Invest*, 2001, 24(2): 135-136.

(收稿日期: 2018-09-26 修回日期: 2018-12-28)

(上接第 1110 页)

住院患儿肺炎支原体, 肺炎衣原体及嗜肺军团菌分布特点分析[J]. *中国当代儿科杂志*, 2016, 18(7): 607-613.

[17] 张娟, 田伟, 贾万良, 等. 哮喘患儿肺炎衣原体及肺炎支原体感染的临床特征分析[J]. *临床与病理杂志*, 2016, 36(12): 1944-1948.

[18] 魏金凤, 邵启民, 赵仕勇, 等. 患儿支原体肺炎与衣原体肺炎的临床特征分析[J]. *中华医院感染学杂志*, 2016, 26(7): 1625-1627.

[19] 刘丽君, 凌继祖, 赵福林. 急性呼吸道感染患儿肺炎支原体和肺炎衣原体病原学特征分析[J]. *中国病原生物学杂志*, 2017, 12(2): 174-177.

[20] 程永婷, 贾晓晖, 马良, 等. 肺炎衣原体 Taqman 探针实时

荧光定量 PCR 检测法[J]. *临床检验杂志*, 2016, 34(5): 343-346.

[21] 杨海燕, 毛静飞, 吴常裕, 等. 肺炎衣原体感染及炎症反应与冠心病的关系[J]. *中华医院感染学杂志*, 2017, 27(23): 5352-5356.

[22] 魏田力, 李静宜, 吴赵永. 成人呼吸道感染患者肺炎衣原体感染分析[J]. *临床和实验医学杂志*, 2017, 16(16): 1627-1629.

[23] 刘大宁, 张丽媛. 荧光定量聚合酶链反应技术在儿童肺炎支原体及肺炎衣原体感染中的应用[J]. *实用医技杂志*, 2017, 24(3): 288-289.

(收稿日期: 2018-09-26 修回日期: 2018-12-30)