

• 短篇论著 •

肺炎支原体不同检测方法的比对分析

王 涛

(南京军区联勤部门诊部, 江苏南京 210018)

摘要:目的 评价被动凝集法和间接免疫荧光法(IIFA)在肺炎支原体(MP)抗体检测中的特点及应用价值。方法 收集 2011 年 8~12 月儿科住院怀疑 MP 感染患者血清 170 例,采用 IIFA 和被动凝集法对标本进行检测,比较两种方法的灵敏度和特异性。结果 IIFA 灵敏度 72.8%,被动凝集法灵敏度 93.6%,二者比较差异有统计学意义($P < 0.01$);IIFA 特异度 97.7%,被动凝集法特异度 64.4%,二者比较差异有统计学意义($P < 0.01$);IIFA 诊断符合率 79.4%,被动凝集法诊断符合率 85.9%,二者比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论 应联合应用两种方法可提高 MP 感染诊断的正确性。

关键词:肺炎支原体; 肺炎支原体抗体; 间接免疫荧光法; 被动凝集法

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.20.033

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)20-2709-02

Comparison of different diagnostic methods for mycoplasma pneumoniae antibody

Wang Tao

(Nanjing Military Region Logistics Division Out-patient Department, Nanjing, Jiangsu 210018, China)

Abstract: Objective To compare test characteristic of IIFA and particle agglutination test for MP antibody detecting and evaluate their values. **Methods** MP antibody were detected in 170 serum samples from MP Pneumonia or MP pneumonia suspicious patients by IIFA and particle agglutination test separately. **Results** The sensitivity for IIFA and particle agglutination test were 72.8% and 93.6%, respectively ($P < 0.05$). And specificity for IIFA and particle agglutination test were 97.7% and 64.4%, respectively, the differences was statically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** Canbined the two wethods can improve MP detecting specificity and sensitivity.

Key words: mycoplasma pneumoniae; mycoplasma pneumoniae antibody; indirect immunofluorescent assay; particle agglutination test

肺炎支原体(mycoplasma pneumoniae, MP)感染是呼吸道感染常见病之一,多发儿童,该病不仅会造成呼吸系统的损伤,同时还易伴有肺外合并症,可累计全身多个器官^[1]。MP 感染因其病程隐匿、肺部体征轻、临床症状轻重不一等特点,极易导致误诊、漏诊,最终延误病情治疗及预后康复。该病的早期诊断仅靠临床表现及肺部体征是远远不够的,有效合理的早期实验室诊断对 MP 感染治疗时机的选择、预后康复至为重要。

目前实验室检测 MP 的方法很多,包括 MP 培养、血清学方法和分子生物学方法,其中血清学方法是 MP 感染临床诊断及流行病学研究的主要方法。本文将评价被动凝集法和间接免疫荧光法(IIFA),希望为临床实验室选择灵敏度高、特异性强的检测方法提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集自 2011 年 8 月至 2011 年 12 月儿科住院期间,疑为 MP 感染的儿科患者血清标本 170 例(清晨空腹抽血,分离血清并置 -20℃ 冰箱备检。),年龄 3 月至 12 岁,其后确诊 MP 感染的患儿 125 例,所有患儿的诊断均符合第 7 版《儿科学》中肺炎支原体肺炎的诊断标准^[2]。

1.2 仪器和试剂 ZEISS 型荧光显微镜, IIFA 法试剂盒 PNEUMOSLIDE IgM 购自 VIRCELL, S. L. 公司,被动凝集法试剂盒 SERODIA-MYCO II 购自富士瑞必欧株式会社。

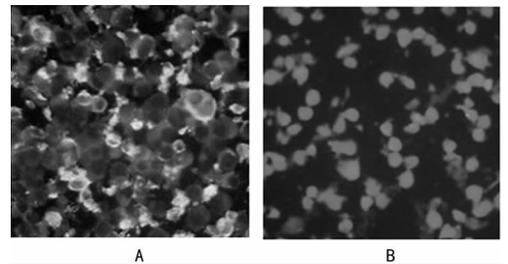
1.3 方法 同时采用两种方法对标本进行检测,严格按照试剂盒使用说明书操作。(1)IIFA 采用定性方法检测:将阳性对照、阴性对照和待测标本同时测量。荧光显微镜下观察到内部质控空阴性,阳性对照和阴性对照出现预期结果,标本中 McCoy 细胞中的肺炎支原体出现苹果绿荧光判断为阳性,否则为阴性。(2)被动凝集法采用定性方法检测:将阳

性对照、阴性对照和待测标本同时测量。未致敏离子呈阴性结果,阳性对照和阴性对照出现预期结果,标本检测 1:40 出现明显增大粒子环为阳性,否则为阴性。

1.4 统计学处理 采用 SPSS16.0 软件进行统计学分析,多样本率的比较采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 间接免疫荧光检测抗 MP-IgM 阳性及阴性图 阳性患者由于体内存在抗 MP-IgM 抗体,可与感染的细胞结合,荧光显微镜下可见感染细胞周边会出现明显的苹果绿荧光,见图 1A;未感染患者体内没有相应的抗体,荧光显微镜下不能看到相应的苹果绿荧光,见图 1B。



A: 抗 MP-IgM 阳性; B: 抗 MP-IgM 阴性。

图 1 间接免疫荧光检测

2.2 两种方法检测确诊 MP 感染 125 例标本结果 在 125 例确诊 MP 感染的患者检测中, IIFA 的灵敏度为 72.8%,被动凝集法的灵敏度 93.6%,被动凝集法灵敏度显著高于 IIFA ($P < 0.01$)。

2.3 两种方法检测确诊 MP 未感染 45 例标本结果 在 45 例确诊 MP 未感染的患者检测中, IIFA 的特异性为 97.7%, 被动凝集法的灵敏度 64.4%, IIFA 检测特异性高于被动凝集法 ($P < 0.01$)。

2.4 两种方法检测 170 例标本结果 在 170 例患者检测中, IIFA 检测的符合率为 79.4%, 被动凝集法的符合率为 85.9%, 两种检测方法符合率差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

3 讨论

肺炎支原体是介于病毒和细菌之间的一种微生物, 其侵入患儿呼吸道后, 可通过产生的过氧化氢与菌膜毒性成分, 导致宿主细胞膜的损伤, 而使患儿气管、支气管、细支气管上皮细胞增生, 最终引起呼吸道及肺部感染。大部分肺炎支原体感染患儿由于肺部体征轻, 确诊困难, 不能得到及时治疗而延误病情造成多器官、多系统损害^[3]。因此, 早期的确诊对肺炎支原体感染患儿的治疗及预后极为重要。

目前实验室诊断 MP 感染的方法很多, 主要有培养法、PCR 法和血清学实验。MP 培养从临床标本中直接培养, MP, 特异性高, 并可依此进行药物敏感试验, 是 MP 感染诊断的金标准^[4]。但培养法存在培养时间长、操作复杂、阳性率低等缺点, 在临床开展困难而且价值有限。PCR 方法虽具有很高的敏感性, 但如实验室质控不严易出现污染导致 PCR 假阳性。同时由于目前 MP 在呼吸道的携带状况尚不明确, 也没有一个确切的域值可以区分 MP 在呼吸道的携带与感染。因此仅仅依据 PCR 阳性结果进行诊断可能高估 MP 的感染率^[5]。因此, 血清学方法是 MP 感染临床诊断及流行病学研究的主要方法。IIFA 具有特异性强的特点, 同时具有重复性好、操作简便和快速等优点。被动凝集法由于其不需任何设备, 易于开展, 其特异性和灵敏度能满足临床的需要, 可作为检测肺炎支原体早期感染的试验诊断方法, 能为临床提供快捷可靠的诊断依据^[6]。

本研究结果表明 IIFA 有更高的特异性, 但其敏感性稍差, 可能与病程初期患者体内 IgM 抗体含量偏低有关, 但 IIFA 特异性很高, 检测结果阳性基本可以确定为 MP 感染, 本次 IIFA 测定 MP 抗体的同时可以检测其他包括甲型、乙型流感病毒、副流感病毒、腺病毒、呼吸道合胞病毒、Q 热立克次体、肺炎衣原体、嗜血军团菌血清 1 型等多种引起呼吸道感染病原体的 IgM 抗体。目前国内急性呼吸道病原体诊断水平有待提高, 但

导多病原体联合检测, 为临床早期病因治疗提供可行性, 及时指导临床合理用药, 避免和减少抗生素的滥用, 也是今后的必经之路^[7]。在实际工作中, 笔者也发现九项呼吸道病原学联合检测中, MP 感染的阳性率最高, 也常出现联合感染的情况(另文报道)。被动凝集法敏感性高, 可能为笔者设置 1:40 滴度判断标准较低相关, 笔者也发现高滴度的被动凝集法阳性与 IIFA 吻合性更好。被动凝集法测定的是 MP 的总抗体, 虽然早期诊断特异性不强, 后期患者血清出现滴度进行性升高, 也会有一定的诊断意义^[8], 其不足的是特异性稍差。在临床工作中, 笔者要根据实际情况, 联合使用各种检测方法, 包括患者血液分析、CRP 和心肌酶谱的变换^[9-10], 并结合患者的临床表现综合判断结果, 以提高 MP 感染的诊断的正确性。

参考文献

- [1] 刘俊峰, 苏丹, 冯素花, 等. 317 例儿童肺炎支原体感染检验结果分析[J]. 检验医学与临床, 2011, 8(16): 1948-1949.
- [2] 沈晓明, 王卫平. 儿科学[M]. 7 版. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 120-135.
- [3] 张冰, 陈志敏. 2000~2006 年三岁以上儿童肺炎支原体肺炎临床特征变化趋势[J]. 中华儿科杂志, 2010, 48(7): 531-534.
- [4] 陈志敏. 儿童肺炎支原体感染的临床特征与诊治原则[J]. 浙江医学, 2012, 34(8): 579-582.
- [5] 赵阅, 孙红妹. 肺炎支原体实验诊断技术现状及发展[J]. 国际呼吸杂志, 2009, 29(5): 304-308.
- [6] 张慧华, 赵燕飞. 援肺炎支原体抗体测定的血清学方法比较[J]. 检验医学, 2008, 23(2): 137-141.
- [7] 季伟, 陈慧中. 亟待提高对急性呼吸道感染多病原学联合检测重要性的认识[J]. 中华预防医学杂志, 2011, 45(3): 197-199.
- [8] 张化涛, 张磊. 196 例呼吸道感染患儿血清中肺炎支原体抗体滴度测定及意义[J]. 山东医药, 2010, 27(1): 68.
- [9] 乔静, 庞新丰. 不同类型小儿肺炎血清心肌酶谱检测的对比分析[J]. 中国医学创新, 2012, 9(23): 28-29.
- [10] 黄炎, 陈峻, 胡娜. CRP 和外周血白细胞联检在儿童上呼吸道感染鉴别诊断中的临床价值[J]. 放射免疫学杂志, 2012, 25(02): 232-233.

(收稿日期: 2013-06-23)

(上接第 2708 页)

的 1/3, 而 c701 甚至仅为规定的 1/10, 良好的抗携带污染能力为保证病人结果之间准确性和重复性提供有力的支持^[3]; 3 套独立的加样系统分别为 c701-A、701-B 和 c502, 其中 3 套加样系统中, 试剂针 2 和样品针的吸样准确性和重复性变异系数均仅为规定范围的 1/2, 试剂针 1 也小于规定范围, 达到符合要求, 加样系统高而精的品质为病人结果准确可靠提供了源头的保障; 临床项目批内精密度, 本科室针对 3 套独立的加样系统分别作了不同方法学项目的批内精密度验证, 从表 2 中可以看出 3 套加样系统的批内精密度都远小于规定的要求, 有力保证了项目的可重复性, 极大减少了偶然误差的发生率, 为临床患者结果提供了可靠的保障。

通过对全自动生化分析仪 cobas c701/c502 性能评价, 初步确定该仪器具有良好性能, 其仪器发散光、吸光度线性范围、吸光度准确性、吸光度稳定性、吸光度重复性、样品携带污染率、加样系统的准确性与重复性以及批内精密度均符合规定要求, 可投入临床运用^[6]。

参考文献

- [1] NCCLS. EP6-A Evaluation of the linearity of quantitative analytical methods: approved guideline[S]. Wayne, PA, USA: NCCLS, 2003.
- [2] NCCLS. EP15-A2 User demonstration of performance for precision and accuracy: approved guideline[S]. Wayne, PA, USA: NCCLS, 2004.
- [3] NCCLS. EP5-A Evaluation of precision performance of quantitative measurement methods: approved guideline[S]. Wayne, PA, USA: NCCLS, 2004.
- [4] 汪志萍, 谈宗明, 李尤薇. 全自动生化分析仪试剂携带污染的检测及处理措施[J]. 检验医学与临床, 2012, 9(15): 1864-1865.
- [5] 魏昊, 丛玉隆. 医学实验室质量管理与认可指南[M]. 北京: 中国计量出版社, 2004: 72-75.
- [6] 刘富新, 郝爱军, 苏大林. 新装生化仪性能验证与对比分析[J]. 国际检验医学, 2012, 33(4): 479-481.

(收稿日期: 2013-07-03)