

表 1 各组新生儿脐血血浆 DD、PCT 水平结果比较(̄x±s)

组别	n	DD(ng/L)	PCT(ng/mL)
轻度窒息组	40	1 740.0±265.0*	8.4±1.7*
重度窒息组	30	3 164.0±453.0*△	18.3±4.7*△
对照组	40	612.0±73.0	0.4±0.1

注:与对照组比较,\*P<0.05;与轻度窒息组比较,△P<0.05。

### 3 讨 论

新生儿窒息是指由于产前、产时或产后的各种病因,使胎儿缺氧而发生宫内窘迫或娩出过程中发生呼吸、循环障碍,导致出生后 1 min 内无自主呼吸或未能建立规律呼吸,以低氧血症、高碳酸血症和酸中毒为主要病理生理改变的疾病。严重窒息是导致新生儿伤残和死亡的重要原因之一,及时诊治复苏并建立通畅呼吸道,纠正酸中毒是预防患儿产生各种严重并发症的关键。“ABCDE”复苏方案的实施,成功挽救了绝大多数窒息新生儿的生命并得到广泛推广。然而,窒息新生儿脐血血浆生化指标 DD、PCT 结果对新生儿疾病诊疗及其转归的临床价值,文献少见报道。PCT 是近年来公认的诊断细菌感染的理想且特异性指标,本文研究发现,窒息患儿 PCT 水平较健康新生儿明显升高(P<0.05),且窒息程度与 PCT 结果明显关联,提示窒息患儿存在不同程度的细菌感染,其原因在于:窒息使得患儿肺部血流不畅,肺的顺应性降低等不良后果,直接导致患儿免疫力及抵抗力降低而各类条件致病菌侵入血液引发细菌感染,且窒息程度越重,感染现象越严重,提示临床医生在治疗该类患者时,应该适当考虑经验性实用抗菌药物。

DD 是纤维蛋白单体经活化因子Ⅻ交联后,再经纤溶酶水解所产生的一种特异性降解产物,是一个特异性的纤溶过程标记物,DD 主要来源于纤溶酶溶解的交联纤维蛋白凝块。20 世纪 80 年代,研究人员发现 DD 在诊断高凝状态方面具有较好的阴性预测值,对深部静脉血栓的判断也都得到学者的广泛认同。本研究发现,新生儿脐血血浆 DD 水平与新生儿窒息存在明显关联,主要表现在:重度窒息组较轻度窒息组 DD 水平显著升高,轻度窒息组与对照组 DD 水平差异显著(P<0.05)。可能的机制在于:新生儿窒息时全身血流应激性地重新分布,当窒息进一步加重时,血管自主调节功能被破坏,造成缺血性

· 经验交流 ·

再灌注损伤<sup>[6-8]</sup>,因血管内皮细胞损伤促发内源性凝血系统而产生大量凝血因子从而激活纤溶系统。结果显示窒息导致患儿缺氧而引发患儿血液呈低凝状态,且随着窒息程度增加而加重,从而引发患儿出现各种临床症状,纠正缺氧建立正常供气通道,是预防患儿出现更严重的凝血功能障碍的重要举措。

综上所述,窒息新生儿存在不同程度的细菌感染现象,该现象随着新生儿窒息程度增加而增加。因此,对窒息新生儿有针对性地使用抗菌药物,对救治患儿有积极作用;同时,窒息患儿由于缺血性再灌注损伤机制导致患儿体内血压呈低凝及纤溶亢进状态,加重了患儿并发其他病症的风险,建立快速供气通道纠正低凝状态,也是救治窒息患儿成功的重要环节。

### 参考文献

- [1] 林雅茵,林新祝,李雅丹,等.脐血降钙素原、白细胞介素-6 和 C 反应蛋白对新生儿宫内细菌感染的诊断价值[J].中国新生儿科杂志,2014,29(2):98-101.
- [2] 曾秋丽.D-二聚体临床应用价值的探讨[J].国际检验医学杂志,2011,32(11):1203-1204.
- [3] 谭同均,龙琴,彭宇生,等.D-二聚体监测对术后重症患者的风险评估[J].现代预防医学,2011,38(15):3046-3047.
- [4] 宫春勇.血清同型半胱氨酸和血浆 D-二聚体水平与脑梗死相关性分析[J].检验医学与临床,2011,8(13):1584-1585.
- [5] 余祖辉.D-二聚体的检测及临床应用进展[J].中国医疗前沿,2011,6(12):12.
- [6] 孙乐科.新生儿窒息早产患儿凝血功能状态[J].中国医药指南,2012,10(10):629-631.
- [7] 于桥爱,唐宁,严提珍,等.血浆 D-二聚体检测在新生儿窒息中的临床意义[J].检验医学与临床,2013,10(20):2746-2747.
- [8] 梅道启,张培云.血降钙素原与超敏 C 反应蛋白联合测定诊断新生儿细菌感染[J].实用医药杂志,2012,29(11):1001-1002.

(收稿日期:2016-01-15 修回日期:2016-03-27)

## 两种方法检测肺炎支原体在诊断支原体肺炎中的意义

杜 昆<sup>1</sup>,李海平<sup>2△</sup>

(湖北省荆州市第一人民医院:1.检验科;2.核医学科 434000)

**摘要:**目的 研究荧光定量 PCR 和 ELISA 法检测肺炎支原体(MP)在诊断支原体肺炎中的意义。方法 采集 61 例支原体肺炎患者和 138 例非支原体肺炎患者的咽拭子和血清标本,分别采用荧光定量 PCR 和 ELISA 法检测 MP DNA 和 MP-IgM,对结果进行比较。结果 61 例支原体肺炎患者中,荧光定量 PCR 检出 MP 阳性 59 例,ELISA 法检出 MP 阳性 53 例,检出率分别为 96.7%和 86.9%;138 例非支原体肺炎患者中,荧光定量 PCR 检出 MP 阳性 4 例,特异性为 97.1%;ELISA 法检出 MP 阳性 30 例,特异性为 78.3%。结论 PCR 法的检出率和特异性均高于 ELISA 法,其对支原体肺炎的诊断意义大于 ELISA 法。

**关键词:**肺炎支原体; 荧光定量 PCR; ELISA

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.14.064

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2016)14-2040-02

肺炎支原体(MP)是住院患者呼吸道感染的常见病原体之

一,在各个年龄段均可致病<sup>[1-2]</sup>,近年来其发病率有逐渐上升的

△ 通讯作者,E-mail:lihaipingzhyy@163.com。

趋势<sup>[3-4]</sup>。患者感染 MP 后除可导致上呼吸道感染、支气管炎、哮喘、不典型肺炎等呼吸道疾病外,还可并发各种肺外并发症<sup>[5-6]</sup>。由于支原体肺炎临床表现不典型,且存在肺外多系统器官疾病,容易导致误诊。因此,对 MP 的检测不但有利于支原体肺炎的早期诊断和早期治疗,而且可以降低该病引起的肺外并发症,具有重要的临床价值。本研究通过 ELISA 法和荧光定量 PCR 检测 61 例支原体肺炎和 138 例非支原体肺炎患者 MP-IgM 抗体和 MP DNA,探讨这两种方法检测 MP 的临床应用价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2014 年 7~10 月本院儿科和呼吸内科肺炎患者共 199 例,其中男 101 例,女 98 例,平均(9.71±16.72)岁。按照支原体肺炎诊断标准:如剧烈咳嗽,X 线胸片改变,青、链霉素及磺胺药无效,血清 MP-IgM 抗体阳性或血清冷凝集滴度大于 1:32 或咽拭子分离 MP 阳性等。61 例确诊为支原体肺炎,其中男 33 例,女 28 例,平均(10.32±15.61)岁;138 例为非支原体肺炎,其中男 68 例,女 70 例,平均(8.25±16.31)岁。两组肺炎患者在性别和年龄分布上差异无统计学意义( $P>0.05$ )。

1.2 方法 对两组肺炎患者分别采用 ELISA 法检测血清 MP-IgM 和荧光定量 PCR 检测咽拭子 MP DNA。血清 MP-IgM 采用德国欧蒙医学实验诊断股份公司 MP-IgM 抗体 ELISA 检测试剂盒检测,咽拭子 MP DNA 采用达安基因股份有限公司 MP 核酸扩增荧光定量检测试剂盒检测。具体操作和阳性判断标准按照试剂盒说明书进行。

1.3 统计学处理 采用统计软件 SPSS13.0 对试验数据进行统计学处理,计数资料比较采用  $\chi^2$  检验,以  $P<0.05$  表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两种方法检测 199 例肺炎患者 MP 结果比较 199 例肺炎患者中,两种方法检测 MP 均阳性 60 例,均阴性 113 例;荧光定量 PCR 检测 MP 阳性,ELISA 法阴性 3 例;荧光定量 PCR 检测 MP 阴性,ELISA 法阳性 23 例。两种方法检测阳性率差异有统计学意义( $\chi^2=108.616, P<0.001$ ),见表 1。

表 1 两种方法检测肺炎患者 MP 的结果比较(n)

荧光定量 PCR	ELISA		合计
	阳性	阴性	
阳性	60	3	63
阴性	23	113	136
合计	83	116	199

2.2 两种方法检测 61 例支原体肺炎患者 MP 结果比较 61 例支原体肺炎患者中,两种方法检测 MP 均阳性 53 例,均阴性 2 例;荧光定量 PCR 检测 MP 阳性,ELISA 法阴性 6 例;荧光定量 PCR 检测 MP 阴性,ELISA 法阳性 0 例。荧光定量 PCR 和 ELISA 法对 MP 的检出率分别为 96.7%和 86.9%,差异有统计学意义( $\chi^2=13.699, P<0.001$ ),见表 2。

2.3 两种方法检测 138 例非支原体肺炎患者 MP 结果比较 138 例非支原体肺炎患者中,两种方法检测 MP 均阳性 4 例,

均阴性 108 例;荧光定量 PCR 检测 MP 阳性,ELISA 法阴性 0 例;荧光定量 PCR 检测 MP 阴性,ELISA 法阳性例 26 例。荧光定量 PCR 法和 ELISA 法检测 MP 的特异性分别为 97.1%、78.3%,差异有统计学意义( $\chi^2=14.83, P<0.001$ ),见表 3。

表 2 两种方法检测支原体肺炎患者 MP 的结果比较(n)

荧光定量 PCR	ELISA		合计
	阳性	阴性	
阳性	53	6	59
阴性	0	2	2
合计	53	8	61

表 3 两种方法检测非支原体肺炎患者 MP 的结果比较(n)

荧光定量 PCR	ELISA		合计
	阳性	阴性	
阳性	4	0	4
阴性	26	108	134
合计	30	108	138

3 讨论

MP 是介于细菌和病毒之间的一种病原微生物,主要引起呼吸系统疾病,同时也可侵犯其他系统器官。由于其临床表现多样,且并发肺外多系统器官疾病后会导致病程延长、病情加重,严重者甚至可危及患者生命,所以建立有效、敏感的早期检测方法十分重要。

目前实验室检测 MP 的方法主要有培养法、血清免疫学检测法和 DNA 检测法等。由于传统的 MP 培养法要求高、敏感性低、检测周期长等缺点,限制了其临床应用,该法主要用于实验室研究<sup>[7]</sup>。本研究比较了荧光定量 PCR 法和 ELISA 法对 MP 的检测结果,199 例肺炎患者中,两种方法检测 MP 结果差异有统计学意义( $P<0.05$ ),而在 61 例支原体肺炎患者中,荧光定量 PCR 法对支原体肺炎患者 MP 检出率高于 ELISA 法( $P<0.001$ )。进一步利用两种方法对 138 例非支原体肺炎患者进行 MP 检测,发现荧光定量 PCR 法对支原体肺炎患者 MP 的特异性高于 ELISA 法( $P<0.001$ )。

虽然 ELISA 法对 MP 的检出率和特异性不如荧光定量 PCR,但 ELISA 法对 MP 仍有较高的检出率。此外,由于荧光定量 PCR 所需仪器昂贵,且对实验室条件要求较高,不适宜在基层医疗卫生单位开展,而 ELISA 法操作简单,仪器价格低廉,对实验室的要求也不高,更加适于基层卫生医疗机构检测 MP。

综上所述,荧光定量 PCR 与 ELISA 法检测 MP 各有优缺点,各级医院可以根据各自的实验室条件选择不同的检测方法。

参考文献

[1] 柯莉芹,王凤美,李银洁,等. 儿童肺炎支原体肺炎流行病学特征[J]. 中国当代儿科杂志,2013,15(1):33-36. (下转插 II)

(上接第 2045 页)

实验室必须进行严格的区域划分,一共分为 4 个区域,按照空气的洁净程度由高到低依次为:试剂准备区、标本处理区、PCR 扩增区、产物分析区。各个区域要求有配套的仪器、设备资料等,缺一不可。为防止污染,PCR 实验室的空气流向是从洁净程度由高到低单向流通的,工作人员不能逆行,各区域之间通过传递窗进行物品的传递等(具体规定详见实验室相关 SOP 文件)。

### 3 操作人员高要求、教员素质高标准

PCR 实验室除了在实验室的构建模式上要求严格,对 PCR 实验室的操作人员同样有非常严格的要求:要求操作人员熟知分子生物学的理论知识,必须持有 PCR 上岗证,在完成日常检验工作之余还要制定继续教育计划制及与 PCR 有关的培训计划,如:PCR 专业知识和技能的培训、生物安全的培训、质量控制理论和方法、参加 NCCL 或各省临检中心的 PCR 专业培训班等。

实验室带教老师首先必须取得医院聘用教员的资格,具备教师应有的一些基本素质。教员除了对实习生和见习生进行带教工作,还要在科室进行授课。在带教过程中,教员应具有夯实的理论基础和较强的动手能力,对学员起到模范作用。在上理论课之前要做好准备工作,制作相应的教案,以 PPT 形式进行授课,要求 PPT 的制作不能过于呆滞,需生动形象,提高学员的听课效率。在带教实验操作过程中,要做到“腿勤、嘴勤、手勤”,不停的巡视,纠正学员错误,悉心教导<sup>[3]</sup>。

### 4 注重实践联系理论、“放手不放眼”

实习生在分子生物学实验室的实习时间较短,制定合理的带教计划能高效利用有限的时间。带教计划的制定主要根据实习大纲的要求、分子生物学实验室的实际工作情况和历届实习生的建议。整个带教过程应重视对实习生动手能力的培养。在放手让学生操作的同时,教员一定要谨慎不能放眼,因为分子生物的实验操作需要提取核酸,配置试剂,进行 PCR 反应,整个过程连贯且要较繁杂,为避免引起不必要的后果,老师一定要仔细观察实习生的操作是否规范,及时纠正操作上的错误,同时实践联系理论,在学员操作的过程中,老师可以不定时的提出一些理论知识上的问题,或者临床工作经验中积累的一些实际问题,这样不仅可以让学生学以致用,巩固知识,还可以拓展视野<sup>[4-5]</sup>。

### 5 培养学员职业道德、关注学员心理

众所周知,目前的医患关系十分的紧张,因此在实习生正式走上工作岗位之前,培养其作为一名医生的职业道德是十分重要的。在医院工作面向的是患者,是生命,要尊重患者尊重生命,因此高度的责任感是作为一名合格医务工作者的首要条

件。医生还需要有无私奉献的精神,兢兢业业,为人民服务。作为一名医技人员,要保证工作态度端正,认真平等的对待每一份标本,确保发出的每一份报告都及时准确。分子生物室的日常工作就是提取核酸进行基因检测,这要求工作人员在操作方面以及报告发放方面倍加细心。

然而,在带教过程中笔者发现部分实习生在心理上对自己的专业缺乏正确的认识,这主要体现在部分同学认为检验科是临床辅助科室,在医院缺乏认同感,所以不够自信。另外他们觉得自己也是五年制学制,但是对临床的学习远远不及临床专业,有很大的失落感,而且随着检验技术的越来越智能化,全自动化,很多操作都是仪器在进行,部分学员就产生了一些“学非所用”的错误心理,甚至是负面情绪。如果发现这些现象,带教老师会及时纠正这些负面的和错误的心理,循序渐进的改变他们对检验专业的认识,让学生以积极健康的心态来继续完成实习任务<sup>[6]</sup>。

### 6 小 结

作为一名合格的分子生物学实验室带教老师,需要不断探索和改进带教方法,对检验专业外的见习生主要通过边参观边讲解的方式,使其了解本院检验科分子生物室开展的项目及大致的日常工作流程。对检验专业的实习生是以理论授课和实验教学相结合,且以自己动手操作为主的方式。带教的同时还应该关心学生的生活以及心理方面的问题。总之,老师要不断地学习和改革带教方案,争取培养出更多的德才兼备的检验人。

### 参考文献

- [1] 陈敏,陈彬,李强. 分子生物学实验带教的几点体会[J]. 基础医学教育,2003,5(5):508-509.
- [2] 邓日辉,唐琼华,何伟业,等. 医学检验实习生临床检验基础学带教体会[J]. 检验医学与临床,2012,9(16):2097-2098.
- [3] 舒乐新,苗戎,杨琳,等. 改革生物化学实验教学提高实验教学质量[J]. 实验室科学,2013,16(5):53-55.
- [4] 李志方,林敏,郑小玲. 临床检验医学实习生带教体会[J]. 检验医学与临床,2008,4(19):1204-1205.
- [5] 杨晓梅,熊英,贺俊崎,等. 医学生物化学实验课的教学改革及探讨[J]. 医学教育探索,2006,5(12):1125-1126.
- [6] 冯海燕. 浅论医学生成才与医德教育的关联性[J]. 卫生职业教育,2013,31(1):7-8.

(收稿日期:2016-01-16 修回日期:2016-03-27)

(上接第 2041 页)

- [2] 徐慧香,张慧燕,车大钊,等. 小儿肺炎支原体肺炎 106 例临床分析[J]. 中国实用儿科杂志,2007,22(1):51-52.
- [3] Braun GS, Wagner KS, Huttner BD, et al. Mycoplasma pneumoniae: usual suspect and unsecured diagnosis in the acute setting[J]. J Emerg Med,2006,30(4):371-375.
- [4] 王芬,耿荣,钱素云,等. 152 例社区获得性肺炎住院患儿的病原学分析[J]. 中华急诊医学杂志,2011,20(8):866-868.
- [5] 王晓芳,洪建国. 肺炎支原体与哮喘的关系[J]. 中国实用儿科杂志,2009,24(8):648-650.

- [6] 宋世军,张旋,谢世营. 儿童肺炎支原体抗体检测与肺炎支原体培养对照研究[J]. 中国优生与遗传杂志,2007,15(7):98-99.
- [7] Yamazaki T, Narita M, Sasaki N, et al. Comparison of PCR for sputum samples obtained by induced cough and serological tests for diagnosis of Mycoplasma pneumoniae infection in children[J]. Clin Vaccine Immunol,2006,13(6):708-710.

(收稿日期:2016-01-14 修回日期:2016-03-27)