

沙泛亚洲研究 (IPASS) 和进展期 NSCLC 治疗研究 (TORCH) 等大型临床试验研究结果显示,应用此种筛选方法确定采用 TKIs 治疗,有可能加重患者临床症状。

参考文献

[1] Thatcher N, Chang A, Parikh P, et al. Gefitinib plus best supportive care in previously treated patients with refractory advanced non-small-cell lung cancer; results from a randomised, placebo-controlled, multicentre study (Iressa Survival Evaluation in Lung Cancer) [J]. Lancet, 2005, 366(9496): 1527-1537.

[2] Chang A, Parikh P, Thongprasert S, et al. Gefitinib (IRESSA) inpatients of Asian origin with refractory advanced non-small cell lung cancer: subset analysis from the ISEL study [J]. J Thorac Oncol, 2006, 1(8): 847-855.

[3] Shepherd FA, Rodrigues PJ, Ciuleanu T, et al. Erlotinib in previously Treated non-small-cell lung cancer [J]. N Engl J Med, 2005, 353(1): 123-132.

[4] Agarwal S, Hirsh V, Agulnik JS, et al. A phase II study of gefitinib(G) versus carboplatin and gemcitabine(CG) in chemotherapy-naive patients with advanced non-small cell lung cancer(NSCLC) and ECOG performance status (PS)2 [C]. Chicago USA: ASCO Meeting, 2010.

[5] Crino L, Cappuzzo F, Zatloukal P, et al. Gefitinib versus vinorelbine In chemotherapy-naive elderly patients with advanced non-small-cell Lung cancer (INVITE): a randomized, phase II study [J]. J Clin Oncol, 2008, 26(26): 4253-4260.

[6] Gridelli C, Ciardiello F, Gallo C, et al. First-line Erlotinib followed by second-line cisplatin-gemcitabine chemotherapy in advanced non-small-cell lung cancer; the TORCH randomized trial [J]. J Clin Oncol, 2010, 30(24): 3002-3011.

[7] Han JY, Park K, Kim SW, et al. First-SIGNAL; first-line single-agent iressa versus gemcitabine And cisplatin trial in never-smokers with adenocarcinoma of the lung [J]. J Clin Oncol, 2012, 30(10): 1122-1128.

[8] Lilenbaum R, Axelrod R, Thomas S, et al. Randomized phase II trial of erlotinib or standard Chemotherapy in patients with advanced non-small-cell lung cancer and a performance status of 2 [J]. J Clin Oncol, 2008, 26(6): 863-869.

[9] Maemondo M, Inoue A, Kobayashi K, et al. Gefitinib or Chemotherapy for non-small-cell lung cancer with mutated EGFR [J]. N Engl J Med, 2010, 362: 2380-2388.

[10] Mitsudomi T, Morita S, Yatabe Y, et al. Gefitinib versus cisplatin plus Docetaxel in patients with non-small-cell lung cancer harbouring Mutations of the epidermal growth factor receptor (WJTOG3405): an open label, randomised phase 3 trial [J]. Lancet Oncol, 2010, 11(1): 121-128.

[11] Mok TS, Wu YL, Thongprasert S, et al. Gefitinib or carboplatin-paclitaxel in pulmonary adenocarcinoma [J]. N Engl J Med, 2009, 361: 947-957.

[12] Rosell R, Carcereny E, Gervais R, et al. Erlotinib versus standard chemotherapy as first-line treatment for European patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (EURTAC): a multicentre, open-label, randomised phase 3 trial [J]. Lancet Oncol, 2011, 13(2): 239-246.

[13] Zhou C, Wu YL, Chen G, et al. Erlotinib versus chemotherapy as first-line treatment for Patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (OPTIMAL, CTONG-0802): a multicentre, open-label, randomised, phase 3 study [J]. Lancet Oncol, 2011, 12(5): 735-742.

(收稿日期: 2016-12-29 修回日期: 2017-02-15)

• 临床研究 •

## 急性呼吸道感染患儿非典型病原体特异性 IgM 抗体检测结果分析\*

朱利明, 罗浩元, 刘集鸿, 周 潇, 朱少美, 张 倩  
(广东省惠州市第一人民医院检验科 516003)

**摘要:**目的 了解急性呼吸道感染患儿非典型病原体感染情况,为临床诊断提供参考依据。方法 分析 4 454 例 0~14 岁急性呼吸道感染患儿 9 种非典型病原体特异性 IgM 抗体检测结果。结果 嗜肺军团菌、肺炎支原体、Q 热立克次体、肺炎衣原体、腺病毒、呼吸道合胞病毒、甲型流感病毒、乙型流感病毒及副流感病毒中,肺炎支原体特异性 IgM 抗体检测阳性率最高 (37.83%),其次为乙型流感病毒 (18.39%)、副流感病毒 (7.27%),其他病原体特异性 IgM 抗体检测阳性率较低。不同病原体混合感染检出率为 21.40%,以肺炎支原体合并乙型流感病毒混合感染为主,检出率为 10.60%。0~<2 岁、2~<7 岁、7~14 岁患儿肺炎支原体特异性 IgM 抗体检测阳性率分别为 12.50%、48.69%、48.77%,春、夏、秋、冬季检测阳性率分别为 34.20%、36.90%、41.49%、39.14%。结论 儿童急性呼吸道感染病原体以肺炎支原体为主,肺炎支原体合并乙型流感病毒混合感染最为常见。肺炎支原体感染好发于婴儿,且秋、冬季发病较多。

**关键词:**急性呼吸道感染; 病原体; 肺炎支原体; 抗体

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2017.11.036

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2017)11-1537-03

急性呼吸道感染是儿童常见病之一。在发展中国家,因急性呼吸道感染死亡儿童在因病死亡儿童中占 30%<sup>[1]</sup>。儿童抵

\* 基金项目:广东省惠州市科技局科技计划立项项目(2013Y059)。

抗力较弱,易发生嗜肺军团菌、肺炎支原体、Q 热立克次体等、肺炎衣原体、腺病毒、呼吸道合胞病毒、甲型流感病毒、乙型流感病毒及副流感病毒等非典型病原体导致的急性呼吸道感染<sup>[2]</sup>。通常情况下,病原体感染 1 周后可在患儿血清中检出病原体特异性 IgM 抗体。本研究分析了本地区急性呼吸道感染患儿上述 9 项呼吸道感染病原体 IgM 抗体检测结果。现将研究结果报道如下。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 2013 年 9 月至 2016 年 11 月,因出现急性呼吸道感染症状于本院诊治的 0~14 岁儿童 4 454 例。

**1.2 方法** 采集患儿肘静脉血 3 mL,13 000 r/min 离心 10 min,分离血清标本,采用西班牙 VIRCELL 公司间接免疫荧光法(IFA)试剂盒检测嗜肺军团菌、肺炎支原体、Q 热立克次体、肺炎衣原体、腺病毒、呼吸道合胞病毒、甲型流感病毒、乙型流感病毒和副流感病毒特异性 IgM 抗体。血清中存在特异性 IgM 抗体时,可结合吸附于载玻片上的抗原,形成抗原-抗体复合物,未与抗原结合的抗体在洗涤步骤中除去,抗原-抗体复合物与荧光素标记的抗人球蛋白结合,采用日本奥林巴斯公司荧光显微镜观察结果。严格参照试剂盒及仪器说明书操作。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS15.0 软件进行数据处理和统计学分析。计数资料以例数和百分率表示,组间比较采用卡方检验。 $P < 0.05$  为比较差异有统计学意义。

### 2 结果

**2.1 病原体特异性 IgM 抗体检测阳性率** 4 454 例患儿共检出病原体特异性 IgM 抗体阳性 2 235 例,阳性率为 50.18%。病原体特异性 IgM 抗体阳性率从高至低依次为肺炎支原体(37.83%)、乙型流感病毒(18.39%)、副流感病毒(7.27%)、腺病毒(2.78%)、甲型流感病毒(1.98%)、嗜肺军团菌(1.91%)、肺炎衣原体(1.21%)、呼吸道合胞病毒(0.88%)、Q 热立克次体(0.25%),以肺炎支原体和病毒类病原体较为常见。

**2.2 混合感染检出率** 4 454 例患儿中,检测混合感染 953 例,检出率为 21.40%。混合感染模式以肺炎支原体合并乙型流感病毒感染最为常见,共检出 472 例,检出率为 10.60%;肺炎支原体合并副流感病毒感染检出 169 例,检出率为 3.79%;其他混合感染模式共检出 321 例,检出率为 7.00%。

**2.3 不同年龄组患儿肺炎支原体特异性 IgM 抗体检测结果** 按年龄将患儿分为 0~<2 岁组、2~<7 岁组、7~14 岁组,2~<7 岁组、7~14 岁组肺炎支原体特异性 IgM 抗体检测阳性率高于 0~<2 岁组( $P < 0.05$ ),2~<7 岁组与 7~14 岁组比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表 1。

**表 1 不同年龄组患儿肺炎支原体特异性 IgM 抗体阳性率**

组别	n	阳性例数(n)	阳性率(%)
0~<2 岁组	1 336	167	12.50
2~<7 岁组	2 549	1 241	48.69
7~14 岁组	568	277	48.77

**2.4 不同季节肺炎支原体特异性 IgM 抗体检测结果** 春季(3~5 月)、夏季(6~8 月)、秋季(9~11 月)、冬季(12 月至次年 2 月)肺炎支原体特异性 IgM 抗体检测阳性率分别为 34.20%、36.90%、41.49%、39.14%。各季节中,春季肺炎支原体特异性 IgM 抗体检测阳性率最低,秋、冬季较高( $P < 0.05$ )。

### 3 讨论

急性呼吸道感染是儿童常见病之一,也是引起儿童死亡的主要病因,严重威胁儿童健康。急性呼吸道感染以非典型病原

体较为常见,如嗜肺军团菌、肺炎支原体、Q 热立克次体、肺炎衣原体、腺病毒、呼吸道合胞病毒、甲型流感病毒、乙型流感病毒以及副流感病毒。病原体常见检测方法包括直接检测病原体的分离培养法、分子生物学方法,以及检测特异性抗体的酶联免疫法等。分离培养法是金标准,但检测时间长、灵敏度低,无法满足临床早期诊断的需要。分子生物学方法技术要求高,检测成本也较高,不适合广泛应用。通常情况下,病原体感染后 1 周左右可在患者血清中检出病原体特异性 IgM 抗体。间接免疫荧光法可快速检测多种呼吸道病原体特异性 IgM 抗体,在疾病早期诊断方面具有重要意义。及时、正确诊断急性呼吸道感染,明确感染病原体,有助于合理制定治疗方案。

本调查结果显示,4 454 例急性呼吸道感染患儿中,检出上述 9 种呼吸道病原体特异性 IgM 抗体阳性 2 235 例。9 种呼吸道病原体中,肺炎支原体特异性 IgM 抗体阳性率最高,占 37.83%,其次为乙型流感病毒、副流感病毒、腺病毒等。因此,本地区急性呼吸道感染患儿以肺炎支原体和病毒类病原体感染为主,尤其是肺炎支原体,与国内外类似研究结果相符<sup>[3-5]</sup>。检出病原体混合感染患儿 953 例,检出率为 21.40%;混合感染模式多样,以肺炎支原体合并乙型流感病毒感染最为常见,检出率为 10.60%,与国内类似研究结果一致<sup>[6]</sup>;其次为肺炎支原体合并副流感病毒感染,检出率为 3.79%。因此,肺炎支原体是儿童急性呼吸道感染最常见病原体。患儿感染某种病原体后,可出现多种临床症状,且不同病原体感染可导致相同的临床症状。因此,呼吸道病原体感染具有极为复杂的临床症状,易被忽视,或导致误诊和抗菌药物滥用。若检测结果为多种病原体混合感染,则可为临床合理用药提供依据。本研究中,0~<2 岁、2~<7 岁、7~14 岁患儿肺炎支原体特异性 IgM 抗体检测阳性率分别为 12.50%、48.69%、48.77%。0~<2 岁婴儿免疫系统尚未完善,抗体水平较低,可能对检测结果产生一定的影响,因此肺炎支原体特异性 IgM 抗体检测阳性率较低。2~<7 岁学龄前幼儿和 7~14 岁学龄期患儿肺炎支原体特异性 IgM 抗体检测阳性率高于婴儿,可能与随着儿童年龄增长,与外界环境接触更为频繁,受到病原体反复感染有关<sup>[7]</sup>。春、夏、秋、冬季肺炎支原体特异性 IgM 抗体检测阳性率分别为 34.20%、36.90%、41.49%、39.14%,说明儿童在不同季节均可发生肺炎支原体感染,但好发于秋、冬季,与国内类似研究结果差异<sup>[8-9]</sup>。肺炎支原体感染好发于秋、冬季,可能与天气寒冷,儿童室内活动增多,病原体易通过空气、飞沫途径传播,导致感染流行有关<sup>[10]</sup>。

国内研究显示,肺炎支原体对大环内酯类药物的耐药率较高,一旦发生肺炎支原体感染,有可能缺乏有效治疗药物,因此患者发热时间和抗菌药物治疗时间较长<sup>[11]</sup>。通过病原体特异性 IgM 抗体,明确急性呼吸道感染患儿感染病原体类型,对避免抗菌药物滥用、流行病学监测等有重要临床意义。

### 参考文献

[1] 艾洪武,孙红,陈莎,等.武汉地区冬春季儿童急性呼吸道感染病原学研究[J].中华医院感染学杂志,2012,22(5):1075-1077.  
 [2] 罗宗初,唐群兰,陈丰,等.某区小儿急性呼吸道感染九种病原体 IgM 抗体检测的意义[J].中国医药指南,2013,11(4):227-228.  
 [3] 季伟,陈正荣,郭红波,等.苏州儿童医院住院儿童呼吸道病毒的流行特点及与气候因素的相关性研究[J].中华预防医学杂志,2011,45(3):205-210.

[4] 蒋最明,彭俊,顾敏,等. 1410 例儿童呼吸道感染病原体分析[J]. 中国感染控制杂志, 2013, 12(2): 129-131.

[5] Kim CK, Choi J, Callaway Z, et al. Clinical and epidemiological comparison of human metapneumovirus and respiratory syncytial virus in Seoul, Korea, 2003-2008[J]. J Korean Med Sci, 2010, 25(3): 342-347.

[6] 卢永芳,林卿,谢丹萍,等. 九项呼吸道病原体 IgM 抗体联合检测的临床意义[J]. 医学理论与实践, 2014, 27(18): 2383-2384, 2398.

[7] 黄之文,何洲,黄进梅,等. 929 例患儿肺炎支原体感染与年龄的相关性研究[J]. 国际检验医学杂志, 2014, 35(9): 1213-1214.

[8] 勾朝阳,白峰岩. 南阳市呼吸道感染住院患儿非细菌病原体 IgM 抗体检测分析[J]. 中国实用医刊, 2015, 42(2):

68-69.

[9] 李宁霞,王明磊,曹东辉. 9 项病原体 IgM 抗体在患儿呼吸道感染检测的应用研究[J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(14): 2059-2060, 2062.

[10] Dumke R, Christian L, Jacobset E. Low rate of macrolide resistance in Mycoplasma pneumoniae strains in Germany between 2009 and 2012[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2013, 57(7): 3460.

[11] Cao B, Zhao CJ, Yin YD, et al. High prevalence of macrolide resistance in Mycoplasma pneumoniae isolates from adult and adolescent patients with respiratory tract infection in China[J]. Clin Infect Dis, 2010, 51(2): 189-194.

(收稿日期: 2017-01-02 修回日期: 2017-02-28)

• 临床研究 •

## 实时荧光定量 PCR 检测人乳头瘤病毒应用研究

陈 丽,冯国钢

(广西壮族自治区百色市人民医院检验科 533000)

**摘要:**目的 探讨实时荧光定量聚合酶链反应(PCR)检测人乳头瘤病毒(HPV)的应用价值。方法 随机选择 2015 年 2 月至 2016 年 2 月于本院就诊的宫颈病变患者 203 例,采用实时荧光定量 PCR 和第二代杂交捕获法(HC II)对宫颈组织标本进行 HPV DNA 检测,对检测结果进行分析。结果 77 例宫颈上皮内瘤变(CIN)患者实时荧光定量 PCR 和 HC II 法 HPV DNA 阳性检出率分别为 93.51%和 85.71%,二者比较差异无统计学意义( $P>0.05$ );和 72 例慢性宫颈炎及鳞状上皮病变患者实时荧光定量 PCR 和 HC II 法 HPV DNA 阳性检出率分别为 59.72%和 36.11%,二者比较差异有统计学意义( $P<0.05$ )。203 例患者实时荧光定量 PCR 和 HC II 法 HPV DNA 阳性检出率分别为 71.43%和 57.64%,二者比较差异有统计学意义( $P<0.05$ )。结论 实时荧光定量 PCR 和 HC II 都可用于 HPV DNA 检测,二者对某些类型宫颈疾病的检测阳性率存在差异。实时荧光定量 PCR 检测对 HPV 感染具有一定的辅助诊断意义,有利于宫颈类疾病的早期诊治,值得推广应用。

**关键词:**实时荧光定量聚合酶链反应; 第二代杂交捕获法; 人乳头瘤病毒

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.11.037

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)11-1539-02

人乳头瘤病毒(HPV)感染是导致宫颈癌及癌前病变的主要原因<sup>[1-3]</sup>。多数宫颈上皮内瘤样病变(CIN)患者存在 HPV 感染,至少 85%的宫颈癌患者宫颈组织标本可检出 HPV DNA 片段,高危型 HPV DNA 检出率更高。因此,HPV DNA 检测有助于为宫颈癌诊断提供一定的依据,提高宫颈癌预防和治疗水平。HPV 种类较多,其中高危型主要包括 15 种,中国人群感染率较高的高危型 HPV 有 3 种<sup>[4-6]</sup>。以往多采用第二代杂交捕获法(HC II)进行 HPV DNA 检测,灵敏度和特异度尚可。近年来,实时荧光聚合酶链反应(PCR)技术在 HPV DNA 检测中的应用日益广泛。本研究比较了实时荧光定量 PCR 和 HC II 两种方法 HPV DNA 检测结果。现将研究结果报道如下。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 随机选择 2015 年 2 月至 2016 年 2 月于本院就诊的宫颈病变患者 203 例,年龄 24~65 岁,平均(35.5±6.3)岁,排除合并其他严重的生殖系统疾病患者。203 例患者中,包括 CIN 患者 77 例,其中 CIN I 级 40 例、CIN II 级 24 例、CIN III 级 13 例,慢性宫颈炎及鳞状上皮病变患者 72 例,其他类型病变患者 54 例。

**1.2 方法** (1)实时荧光定量 PCR 检测:根据美国国立生物技术信息中心(NCBI)数据库中 HPV16 和 18 型 DNA 序列,合成 2 条约 80 bp 长的碱基片段,中间包括 15 个碱基互补重

叠区,采用片段重叠延伸法构建 HPV16 和 18 型阳性质粒。采用深圳凯杰生物工程有限公司 HPV 实时荧光定量 PCR 检测试剂盒及澳大利亚 Corbett-Research 公司 Rotor-geneQ 实时荧光定量 PCR 检测仪,对患者宫颈组织标本进行 HPV DNA 检测。特异性引物和探针分别与靶序列结合,Taq 酶在引物的引导下复制靶序列,遇到结合在 2 条引物之间的探针时,发挥 5'端外切酶功能,将探针水解,形成游离的羧基荧光素(FAM),FAM 荧光基团发射荧光,每合成 1 条 DNA 链,发射 1 次荧光信号。当靶序列呈指数增长时,发射的荧光信号量相应增长。因此,标本含有相应类型的 HPV DNA 时,可出现荧光信号的积累,从而达到检测 HPV DNA 的目的。(2)HC II 检测:采用常规 HC II 检测方法对患者宫颈组织标本进行 HPV DNA 检测。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS19.0 软件进行数据处理和统计学分析。计数资料以例数和百分率表示,组间比较采用卡方检验。不同方法检测结果一致性分析采用 Kappa 检验。 $P<0.05$ 为比较差异有统计学意义。

### 2 结 果

**2.1 HPV DNA 阳性检出率比较** CIN 患者实时荧光定量 PCR 法 HPV DNA 阳性检出率为 93.51%(72/77),HC II 法 HPV DNA 阳性检出率为 85.71%(66/77),二者比较差异无统计学意义的( $P>0.05$ );慢性宫颈炎及鳞状上皮病变患者实