

• 论 著 •

胶体金法和被动颗粒凝集法在儿童肺炎支原体感染检测中的应用比较^{*}

宋秦伟¹, 葛梦蕾¹, 王娅琳¹, 崔菲菲², 马丽娟^{1△}

(首都儿科研究所附属儿童医院: 1. 检验科; 2. 呼吸科, 北京 100020)

摘要: **目的** 比较胶体金法和被动颗粒凝集法检测肺炎支原体(MP)感染的符合率, 探讨儿童中应用被动颗粒凝集法辅助临床诊断 MP 近期或现症感染的总抗体滴度阈值。 **方法** 选取 2019 年 1—7 月于该院呼吸科住院治疗的临床诊断为 MP 呼吸道感染患儿 265 例。使用被动颗粒凝集法检测 265 例患儿血清 MP 总抗体滴度, 采用胶体金法检测血清 MP-IgM, 并对检测结果进行统计学分析。 **结果** 以患儿血清 MP 总抗体滴度 $\geq 1:160$ 作为 MP 近期或现症感染的诊断标准, 两种方法的总符合率为 81.89%, 差异无统计学意义 ($P=0.193$); 若以总抗体滴度 $\geq 1:80$ 作为 MP 近期或现症感染的诊断标准, 两种方法的总符合率为 85.66%, 差异有统计学意义 ($P=0.034$)。总抗体滴度 1:80 和 1:160 组中 MP-IgM 阳性率分别为 70.83% 和 71.70%, 差异无统计学意义 ($P=0.938$)。 **结论** 在儿童感染 MP 后, 随着血清中 MP 总抗体滴度增加, MP-IgM 阳性率增高; 血清 MP 总抗体滴度 $\geq 1:160$ 和胶体金法血清 MP-IgM 阳性作为 MP 近期或现症感染的诊断标准, 均可为临床提供可靠且一致性好的诊断依据。

关键词: 肺炎支原体; 胶体金法; 被动颗粒凝集法; 儿童

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2020.19.018

中图法分类号: R375+.2

文章编号: 1673-4130(2020)19-2372-03

文献标识码: A

Comparison of colloidal gold method and passive particle agglutination method in the detection of Mycoplasma pneumoniae infection in children^{*}

SONG Qinwei¹, GE Menglei¹, WANG Yalin¹, CUI Feifei², MA Lijuan^{1△}

(1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of Respiration, Children's Hospital Capital Institute of Pediatrics, Beijing 100020, China)

Abstract: **Objective** To compare the coincidence rate between colloidal gold method and passive particle agglutination method in detecting Mycoplasma pneumoniae (MP) infection, and to explore the total antibody titer threshold of passive particle agglutination in assisting clinical diagnosis of MP infection in children. **Methods** From January 2019 to July 2019, 265 children with MP respiratory tract infection in respiratory department of our hospital were selected. The total MP antibody titers of 265 children were detected by passive particle agglutination method, and the serum MP-IgM was detected by colloidal gold method, and the results were statistically analyzed. **Results** If the antibody titer $\geq 1:160$ was used as the diagnostic standard of MP recent or present infection, the total coincidence rate of the two methods was 81.89% with no statistically significant difference ($P=0.193$). If the antibody titer $\geq 1:80$ was used as the diagnosis standard of MP recent or present infection, the total coincidence rate of the two methods was 85.66%, with statistically significant difference ($P=0.034$). In addition, the MP-IgM positive rate in the antibody titer 1:80 and 1:160 groups was 70.83% and 71.70% respectively, with no statistically significant difference ($P=0.938$). **Conclusion** After MP infection in children, the positive rate of MP-IgM increased with the increase of the total MP antibody titer in serum. As the diagnostic standard for recent or current MP infections, both serum MP total antibody titer $\geq 1:160$ and serum MP-IgM positive by colloidal gold method could provide reliable and consistent diagnostic basis for clinical practice.

Key words: Mycoplasma pneumonia; colloidal gold method; passive agglutination method; children

肺炎支原体(MP)是我国儿童和成人社区获得性肺炎(CAP)的重要病原体之一, 占儿童 CAP 的

^{*} 基金项目: 北京市医院管理局“青苗”计划(QML20171304); 北京市首都卫生发展科研专项(首发 2018-4-2102)。

作者简介: 宋秦伟, 男, 主管技师, 主要从事临床免疫学和病原学研究。 [△] 通信作者, E-mail: lijuanmary@sina.com。

本文引用格式: 宋秦伟, 葛梦蕾, 王娅琳, 等. 胶体金法和被动颗粒凝集法在儿童肺炎支原体感染检测中的应用比较[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(19): 2372-2374.

10%~30%, MP 流行时 CAP 人数可增加 3~5 倍^[1-2]。儿童感染 MP 后常表现为呼吸道症状,可有亚临床或轻症感染,再感染常见,可合并其他病原体感染。近年来,由 MP 感染引起的重症和难治性肺炎患儿越来越多^[3-4]。大环内酯类耐药 MP 的出现及其 90%~100% 的耐药率^[5-6],给临床的诊治提出了严峻挑战。因此,早期诊断 MP 感染对及时治疗有重要意义,而实验室病原学诊断是 MP 感染诊断的关键,其中血清学抗体检测是常用方法。本研究对临床常用的胶体金法和被动颗粒凝集法在儿童中快速诊断 MP 近期或现症感染的临床价值进行了比较和评估。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2019 年 1—7 月于本院呼吸科住院治疗且经临床诊断为 MP 呼吸道感染患儿 265 例,其中男 125 例,女 140 例,平均年龄(6.04±3.51)岁。依据第 8 版《诸福堂实用儿科学》诊断标准,临床表现主要为呼吸系统疾病,以咳嗽、咳痰、气喘和发热症状为主,单次血清总抗体滴度≥1:160 或急性期/恢复期双份血清总抗体滴度 4 倍及以上升高。

1.2 方法 收集 265 例患儿入院后初次采集静脉血分离的血清,分装后于-80℃冻存。

1.2.1 被动颗粒凝集法 采用日本富士瑞必欧株式会社(FUJIEBIO INC)生产的 MP 抗体检测试剂盒[商品名:赛乐迪亚-麦可 II (SERODIA-MYCO II)]检测血清中的 MP 总抗体,即 IgM、IgG、IgA 等所有亚型的 MP 抗体。操作严格按试剂盒说明书进行,同时设立阴性和阳性对照孔,结果以滴度表示(标本稀释倍数范围:1:40~1:1280),临界值为 1:40。

1.2.2 胶体金法 采用珠海丽珠试剂股份有限公司生产的 MP-IgM 检测试剂盒检测血清中的 MP-IgM 抗体,以出现阳性检测线为阳性,使用珠海丽珠胶体金试纸分析仪判读结果。

1.3 统计学处理 采用 SPSS18.0 软件进行数据分析,计数资料以例数或百分比表示,采用配对χ²检验进行比较,以P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两种方法检测结果比较 265 例患儿血清同时采用胶体金法和被动颗粒凝集法两种方法检测。胶体金法检测 MP-IgM 抗体阳性率为 64.91%(172/265);被动颗粒凝集法检测 MP 总抗体阳性率为 82.26%(218/265),以 MP 总抗体滴度≥1:40 判为阳性。两种方法的阳性率比较,差异有统计学意义(P<0.05)。

2.2 不同总抗体滴度组 MP-IgM 抗体阳性检出情况 按照被动颗粒凝集法不同抗体滴度进行分组,随着血清中 MP 总抗体滴度增加,胶体金法 MP-IgM 抗体阳性率增高,见图 1。总抗体滴度 1:80 和 1:160 组中 MP-IgM 抗体阳性率分别为 70.83% 和 71.70%,差异无统计学意义(P=0.938)。

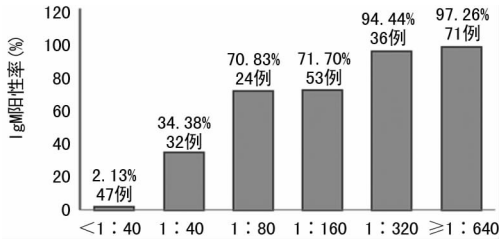


图 1 不同总抗体滴度组 MP-IgM 抗体阳性率

2.2.1 以总抗体滴度≥1:160 作为临界值时两种方法检测结果比较 以总抗体滴度≥1:160 作为判断 MP 近期或现症感染的临界值,胶体金法和被动颗粒凝集法两种方法检测结果的符合率为 81.89%,差异无统计学意义(P=0.193),见表 1。

表 1 以总抗体滴度≥1:160 作为临界值时两种方法检测结果比较(n)

胶体金法 (IgM 抗体)	被动颗粒凝集法(总抗体滴度)		合计
	阳性	阴性	
阳性	143	29	172
阴性	19	74	93

2.2.2 以总抗体滴度≥1:80 作为临界值时两种方法检测结果比较 以总抗体滴度≥1:80 作为判断 MP 近期或现症感染的临界值,两种方法检测结果的符合率为 85.66%,差异有统计学意义(P=0.034),见表 2。

表 2 总抗体滴度≥1:80 作为临界值两种方法结果比较(n)

胶体金法 (IgM 抗体)	被动颗粒凝集法(总抗体滴度)		合计
	阳性	阴性	
阳性	160	12	172
阴性	26	67	93

3 讨论

MP 的检测方法主要分病原学检测和血清学检测两大类,其中血清学特异性抗体检测仍然是目前应用于临床诊断 MP 感染的最常用方法。一般人体在初次感染 MP 后,IgM 抗体可在感染 1 周内升高,2~3 周达到高峰,4 周时下降,2~3 个月降至最低^[7]。IgM 抗体是 MP 感染后最早产生的特异性抗体,作为早期诊断指标,IgM 特异性抗体检测结果为阳性,可提示近期感染。胶体金法检测患儿血液中 MP 特异性 IgM 抗体具有以下优点:(1)特异度和灵敏度较高^[8];(2)操作简便,报告结果时间短;(3)既可检测血清,也可检测末梢全血;(4)用量较少,20 μL 即可;(5)检测结果可用肉眼判读,为减少人为误差,也可使用胶体金试纸分析仪进行判读。

IgG 比 IgM 出现晚,一般在感染后 2 周左右出现,第 5 周达到滴度峰值,且维持时间较长^[9-10]。本研究中被动颗粒凝集法检测的是 MP 的总抗体,即包含 IgM、IgA 和 IgG 等血清中可能存在的所有类型的 MP 特异性抗体。作为最经典和传统的检测方法,其

重复性好,特异度和灵敏度也较高。在《儿童社区获得性肺炎管理指南(2013 修订)》^[11]、《儿童肺炎支原体肺炎诊治专家共识(2015 版)》^[12]和《儿童肺炎支原体呼吸道感染实验室诊断专家共识》^[13]等一个指南和两个专家共识中,均提出以血清 MP 总抗体滴度 $\geq 1:160$ 作为 MP 近期或急性感染的参考或诊断标准,恢复期和急性期 MP 抗体滴度呈 4 倍及以上增高或减低时,可确诊为 MP 感染^[11-14]。然而,患儿就诊时很难判断其处于 MP 感染的哪个阶段,门诊时不宜采集静脉血,间隔数日或数周采集双份血清更加困难。另外,该方法全程需要手工操作,耗时较长,一般 3 h 以上才能判断结果,且只能人工肉眼判断,人工误差难以避免。

本研究结果显示,被动颗粒凝集法检测 MP 总抗体的阳性率($\geq 1:40$ 为阳性)明显高于胶体金法检测 MP-IgM 抗体的阳性率,但被动颗粒凝集法检测 MP 总抗体滴度 $\geq 1:40$,仅表明患儿血清中存在 MP 抗体(IgM、IgG、IgA 各种亚型 MP 抗体中的一种或几种),并不能表明其为近期或现症感染。另外,胶体金法检测 MP-IgM 抗体的阳性率会随着总抗体滴度升高而增高。被动颗粒凝集法检测的 MP 总抗体滴度越高,其中 IgM 特异性抗体水平也可能越高,血清 MP 总抗体滴度 $\geq 1:160$ 和 IgM 特异性抗体阳性对诊断结果一致性很高。

依据指南和专家共识^[11-13],单次被动颗粒凝集试验总抗体滴度 $\geq 1:160$,提示近期或现症感染。本研究显示,以总抗体滴度 $\geq 1:160$ 作为判断标准,血清 MP 总抗体滴度 $\geq 1:160$ 和胶体金法血清 MP-IgM 阳性作为 MP 近期或现症感染的临床辅助诊断手段具有等效性;若以总抗体滴度 $\geq 1:80$ 作为判断 MP 近期或现症感染的临界值,两种方法检测结果的总符合率为 85.66%,但差异有统计学意义($P=0.034$)。因而本研究结果进一步支持了指南和专家共识中,以抗体滴度 $\geq 1:160$ 作为临界值的判断标准。

此外,本研究结果显示,总抗体滴度 1:80 组和 1:160 组,两组中 MP-IgM 抗体阳性率分别为 70.83%和 71.70%,差异无统计学意义($P=0.938$)。这可能与总抗体滴度 1:80 组的样本量较少有关;被动凝集法的结果是人工判读,允许存在上下一个滴度级别的误差,这亦可能是其中的原因之一。黎翠翠等^[15]的报告显示,儿童 MP-IgM 抗体阳性与被动凝集法抗体滴度 $\geq 1:160$ 和 $\geq 1:320$ 的符合率均为 95%,只有极少数抗体滴度为 1:80,这与本研究结果存在一定的差异,分析其原因可能与其报告中儿童病例数较少有关。在儿童患者中,当血清中总抗体滴度达到 1:80 时,MP-IgM 抗体阳性率也较高(70.83%),对临床诊断有较好的提示意义。能否将总抗体滴度 $\geq 1:80$ 作为判断 MP 近期或现症感染的临界值,尚需要更多的实验数据来支持。

4 结 论

胶体金法、被动颗粒凝集法均可用于 MP 近期或

现症感染的临床辅助诊断,胶体金法适用于门诊初筛,被动颗粒凝集法更适用于住院患儿的检测。如果条件允许,建议同时开展两种方法的检测,以利于临床早期诊断 MP 感染。

参考文献

- [1] MCCULLOH R J, PATEL K. Recent developments in pediatric community-acquired pneumonia[J]. Curr Infect Dis Rep, 2016, 18(5): 14.
- [2] YAN C, SUN H, ZHAO H. Latest surveillance data on mycoplasma pneumoniae infections in children, suggesting a new epidemic occurring in Beijing[J]. J Clin Microbiol, 2016, 54(5): 1400-1401.
- [3] SHIMIZU T. Inflammation-inducing factors of Mycoplasma pneumoniae[J]. Front Microbiol, 2016, 7: 414.
- [4] BAO Y X, LI J, TIAN Y, et al. Atopy: a risk factor of refractory Mycoplasma pneumoniae pneumonia? [J]. Clin Respir J, 2017, 11(6): 931-934.
- [5] ZHOU Z, LI X, CHEN X, et al. Macrolide-resistant Mycoplasma pneumoniae in adults in Zhejiang, China[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2015, 59(2): 1048-1051.
- [6] ZHANG Y, ZHOU Y, LI S, et al. The clinical characteristics and predictors of refractory Mycoplasma pneumoniae pneumonia in children[J]. PLoS One, 2016, 11(5): e0156465.
- [7] 白晓晨. 肺炎支原体血清学抗体检测现状与研究进展[J]. 国际儿科学杂志, 2017, 44(3): 147-151.
- [8] LI W, LIU Y, ZHAO Y, et al. Rapid diagnosis of Mycoplasma pneumoniae in children with pneumonia by an immuno-chromatographic antigen assay[J]. Sci Rep, 2015, 5: 15539.
- [9] 尚红, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2015: 485-486.
- [10] LEE S C, YOUN Y S, RHIM J W, et al. Early serologic diagnosis of Mycoplasma pneumoniae pneumonia: an observational study on changes in titers of specific-IgM antibodies and cold agglutinins[J]. Medicine (Baltimore), 2016, 95(19): e3605.
- [11] 陆权. 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(2): 83-90.
- [12] 陈志敏, 尚云晓, 赵顺英, 等. 儿童肺炎支原体肺炎诊治专家共识(2015 年版)[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2015, 30(17): 1304-1308.
- [13] 中华医学会儿科学分会临床检验学组. 儿童肺炎支原体呼吸道感染实验室诊断中国专家共识[J]. 中华检验医学杂志, 2019, 42(7): 507-513.
- [14] LEE W J, HUANG E Y, TSAI C M, et al. Role of serum Mycoplasma pneumoniae IgA, IgM, and IgG in the diagnosis of Mycoplasma pneumoniae-related pneumonia in school-age children and adolescents[J]. Clin Vaccine Immunol, 2017, 24(1): e00471-e00516.
- [15] 黎翠翠, 李蔼文, 苗霞, 等. 胶体金法和被动凝集法在肺炎支原体检测中的比较[J]. 实用医学杂志, 2017, 33(12): 2036-2038.