

317 例儿童肺炎支原体感染检验结果分析

刘俊峰, 苏丹, 冯素花, 黄相翠, 邱耿娴, 廖志玲 (广东省英德市人民医院 513000)

【摘要】目的 探讨荧光聚合酶链反应(PCR)、被动凝集法、C 反应蛋白(CRP)检测在儿童呼吸道肺炎支原体(MP)感染的临床应用价值及意义,寻求合理的检测方法以提高病原体的检出率,综合各种检测方法的优点,合理的指导临床用药。**方法** 选择本院诊治的呼吸道感染患儿 317 例,荧光 PCR 检测咽拭子及深部痰液,被动凝集法检测患儿血清,免疫比浊法检测血浆 CRP。**结果** 荧光 PCR 阳性率 15.1%(48/317),单份血清被动凝集法 30.6%(97/317),双份血清被动凝集法 35.6%(113/317),荧光 PCR 联合被动凝集法 41.6%(132/317)。荧光 PCR 与被动凝集法的结果一致性比较差,荧光 PCR 阳性患者检测平均病程 8.2 d,被动凝集法阳性患者检测平均病程 12.6 d, $t=11.67, P<0.001$,两者检出时间差异有统计学意义,荧光 PCR 更适用于早期诊断。联合血浆 CRP 检测,以 CRP >6 mg/L 为阳性,各种方法检测阳性患儿中 CRP 阳性率为荧光 PCR 阳性率的 52.1%(25/48);被动凝集法阳性滴度(1:40)组 71.6%(53/74);被动凝集法阳性滴度大于(1:40)组 79.5%(31/39);荧光 PCR 与 CRP 的阳性符合率低于被动凝集法。在不同年龄段 3 种方法的检测,0~3 岁组 62 例呼吸道感染患儿单份及双份血清被动凝集法阳性率分别为 3.2%(2/62)和 4.8%(3/62),与荧光 PCR 阳性率 14.5%(9/62)比较, $\chi^2=6.64, P<0.05$,差异有统计学意义,荧光 PCR 更适用于婴幼儿的 MP 感染检测。**结论** 荧光 PCR 更适用于早期诊断及婴幼儿的 MP 感染检测。被动凝集法与 CRP 对荧光 PCR 的检测结果,尤其对带菌人群的临床假阳性结果可提供辅助诊断,合理的指导临床用药。

【关键词】 肺炎支原体; 荧光 PCR; 被动凝集法; C 反应蛋白; 免疫比浊法

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.16.015 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2011)16-1948-02

Analysis on the test result of children with mycoplasma pneumonia in 317 cases LIU Jun-feng, SU Dan, FENG Suhua, HUANG Xiang-cui, QIU Geng-xian, LIAO Zhi-ling (The People's Hospital of Yingde City, Guangdong 513000, China)

【Abstract】Objective To investigate the fluorescence PCR, passive agglutination, C-reactive protein (CRP) detection of children with mycoplasma pneumonia (MP), and its clinical value and significance. **Methods** 317 children with respiratory tract infection in our hospital were collected, fluorescence PCR was used to detect the throat swab and deep sputum, serum was detected by passive hemagglutination method, plasma CRP was tested by immune turbidimetry. **Results** The positive rates of the result tested by fluorescent PCR, monovalent serum passive hemagglutination method, paired serum passive hemagglutination method were 15.1% (48/317), 30.5% (97/317), 35.6% (113/317); and the positive rate of the result tested by fluorescence PCR method combined with passive hemagglutination method was 41.6% (132/317); The result of fluorescent PCR was not agree with the result of passive hemagglutination method. The average duration of positive patient tested by fluorescent PCR was 8.2 days, and that of positive patient tested by passive hemagglutination method was 12.6 days ($t=11.67, P<0.001$), which showed a significant difference between the two positive test times, and the fluorescent PCR was more suitable for early diagnosis. CRP >6 mg/L was positive, the positive rates of CRP tested by fluorescence PCR was 52.1% (25/48); the positive rates of passive hemagglutination method positive titer (1:40) group, passive hemagglutination method positive titer $>(1:40)$ group were 71.6% (53/74), 79.5% (31/39). The positive coincidence rate of fluorescence PCR and CRP was less than that of passive hemagglutination method. The positive rates of 62 children with respiratory tract infection in 0-3-year-old group tested by monovalent and paired serum passive hemagglutination method were 3.2% (2/62) and 4.8% (3/62), and fluorescent PCR positive rate was 14.5% (9/62), $\chi^2=6.64, P<0.05$, which showed a significant difference, and fluorescent PCR was more suitable for testing MP infections of infants and young children. **Conclusion** Fluorescent PCR is more suitable for early diagnosis and detection of MP in infants, passive hemagglutination method and CRP could help the diagnosis of positive result, particularly for the false positive results of carrier groups, and provide a reasonable guide for clinical medication.

【Key words】 mycoplasma pneumoniae; fluorescent PCR; passive hemagglutination method; C-reactive protein; immune turbidimetry

肺炎支原体(MP)是原发性非典型肺炎和急性呼吸道感染的重要病原体,尤其常见儿童和青少年呼吸道感染。感染后除引起既往认为的原发性非典型肺炎,还可引起全身各脏器损

害,但以呼吸道感染最为多见,仅依据临床表现常难以与病毒、细菌及结核感染鉴别。本文就 2008 年 6 月至 2011 年 2 月 317 例疑似 MP 感染患儿的荧光聚合酶链反应(PCR)、被动凝集法

及 C 反应蛋白(CRP)检测结果分析如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2008 年 6 月至 2011 年 2 月因呼吸道感染或发热在本院门诊及住院患儿 317 例,男 153 例,女 164 例,年龄 2 个月至 15 岁,平均 8.3 岁。其中 0~3 岁 62 例,3~6 岁 77 例,6~15 岁 178 例。

1.2 方法

1.2.1 荧光 PCR 检测 患儿咽拭子及深部痰液,试剂由中山大学达安基因股份有限公司提供,扩增仪为 ABI7300。痰液吸取使用一次性吸痰器取气管深部分泌物,咽拭子取咽部分泌物置于无菌容器,加入等渗盐水充分振荡混匀,促使大块黏状物下沉,取上清液离心,所得到的沉淀物用于核酸提取^[1]。标本核酸提取严格按试剂说明书操作,反应循环条件:93 ℃ 2 min; 93 ℃ 45 s,55 ℃ 60 s,10 个循环;93 ℃ 30 s,55 ℃ 45 s,30 个循环。结果判定增长曲线呈 S 型且 CT 值小于 30 为阳性。

1.2.2 被动凝集法检测 患儿血清,MP 抗体检测试剂盒(SE-RODIA-MYCO-II)由日本富士瑞必欧株式会社提供。致敏粒子与人血清中存在的 MP 抗体发生凝集反应,检测严格按试剂说明书操作,高度怀疑患儿检测阴性,数天后重新取血复检。

1.2.3 CRP 检测 采用乳胶增强免疫比浊法,试剂由宁波美康生物科技有限公司提供,生化仪为日立 7170,空腹采血并尽快分离血清,避免溶血标本,以 CRP>6 mg/L 为阳性。

13 统计学处理 采用 SPSS 14.0 统计软件进行统计学分析,行 *t* 检验及 χ^2 检验。

2 结果

2.1 317 例患者各种方法检测阳性率见表 1。

表 1 各种方法检测阳性率

检测方法	阳性率
荧光 PCR	15.1%(48/317)
血清被动凝集 单份	30.5%(97/317)
双份	35.6%(113/317)

$\chi^2=36.605, P<0.01$, 三者阳性率差异有统计学意义。荧光 PCR 阳性率低于被动凝集法,荧光 PCR 联合被动血清凝集法检测阳性患者 132 例,阳性率 41.6%,荧光 PCR 检测的阳性结果与被动凝集法检测阳性结果一致性较差。荧光 PCR 检测阳性患者平均病程(8.2±2.5)d,单份血清被动凝集法检测阳性患者平均病程(11.6±2.9)d,*t*=7.06,*P*<0.001,两者检测阳性患者病程差异有统计学意义,荧光 PCR 所检测的阳性患者病程较短。

2.2 联合 CRP,在荧光 PCR 与被动血清凝集法不同滴度的阳性患者中 CRP>6 mg/L 荧光 PCR 阳性率 52.1%(25/48),被动凝集法(滴度 1:40)阳性率 71.6%(53/74),被动凝集法(滴度大于 1:40)阳性率 79.5%(31/39)。

$\chi^2=8.352, P<0.05$,荧光 PCR 与 CRP 的符合率低于被动凝集法。

2.3 3 种方法检测各年龄段患儿 MP 感染情况见表 2。

表 2 3 种方法检测不同年龄患 MP 感染情况

检测方法	0~3 岁	3~6 岁	6~15 岁
荧光 PCR	14.5%(9/62)	15.6%(12/77)	15.2%(27/178)
单份血清被动凝集法	3.2%(2/62)	44.2%(34/77)	34.3%(61/178)
双份血清被动凝集法	4.8%(3/62)	50.6%(39/77)	39.9%(71/178)

0~3 岁组中 3 种方法检测结果, $\chi^2=6.64, P<0.05$,荧光 PCR 检测阳性率高于被动凝集法,荧光 PCR 各年龄组比较, $\chi^2=0.031, P=0.985$,各年龄组阳性率差异无统计学意义;单、双份血清被动凝集法各年龄组比较 χ^2 值分别为 29.669、34.603,*P* 值均<0.001,被动凝集法在 0~3 岁组检测阳性率偏低。

3 讨论

痰标本中含大量黏蛋白和杂质,在扩增过程中对 PCR 反应的关键酶 *Taq* 酶有抑制作用,造成结果的假阴性^[1]。所以标本的预处理在结果的准确性方面尤为重要,也是造成荧光 PCR 阳性率偏低的原因之一。被动凝集法检测是 MPAb-IgM/IgG,MP 特异性抗体 IgM 一般在感染后一周出现,3~4 周达到高峰^[2],IgG 则更迟,特异性抗体的检测有一定的滞后性,对于感染初期患者被动凝集法容易漏诊^[3]。实验数据显示,双份血清阳性率高于单份血清阳性率,间隔时间做双份血清检测对 MP 的检出率有积极的作用。荧光 PCR 适合于做早期的检测,荧光 PCR 检测阳性患儿 48 例中,19 例患儿被动凝集法检测阴性,两种方法检测的一致性差。分析一致性差的原因在于特异性抗体的检测滞后性,实验数据支持荧光 PCR 检测阳性患者平均病程短于被动凝集法,两者差异有统计学意义。

CRP 作为比较灵敏的一种急性时相反应蛋白,健康人血浆中 CRP 含量甚微(<6 mg/L)。而在炎症反应或急性组织损伤后,CRP 合成则在 4~6 h 内迅速增加,36~50 h 达到高峰,峰值可为正常值的 100~1 000 倍,其半衰期较短(4~6 h)。CRP 的水平与组织损伤后修复的程度有密切关系,不受性别、年龄、贫血、高球蛋白血症等因素的影响。即使患儿机体反应低下,常规检查(如白细胞)正常时,CRP 亦可呈阳性,并随着感染的加重而升高,因此它优于其他急性期的反应物质^[4]。在本研究中 CRP 的阳性率与被动凝集法特别是滴度比较高的患者阳性符合率高,与荧光 PCR 的符合率则稍低。荧光 PCR 属于比较灵敏的检测方法,一部分隐形感染患儿,不表现出临床症状,但属于带菌人群,荧光 PCR 结果可呈阳性,CRP 与被动凝集法都可呈阴性结果,部分隐形感染患者随疾病进展出现临床症状,部分无需治疗能达到自愈^[5]。国内有报道,对于病毒性上呼吸道感染,CRP 基本正常,肺炎患儿 CRP 稍高,而细菌性肺炎患儿 CRP 明显增高^[6]。支原体肺炎患儿 CRP 阳性率明显低于细菌性感染患儿,CRP 可为鉴别 MP 感染或细菌感染提供参考,对临床用药具有一定的指导意义。

MP 是引起儿童支气管肺炎比较常见的病原体,本研究结果表明学龄前儿童感染率较高,这与这个阶段儿童的免疫力较弱有关。近年有报道称 MP 感染婴幼儿正在增多^[7-8]。对于 MPAb-IgM/IgG 的检测阳性率的影响因素主要有疾病的病程与患者的免疫功能状态^[9]。免疫功能低下患者,免疫反应性低,MPAb-IgM/IgG 升高幅度低,检出率就偏低。本次被动凝集法实验数据 0~3 岁组阳性率偏低,主要与婴幼儿的免疫功能发育未全有关,荧光 PCR 是病原体检测,与患者的免疫功能状态无关,在婴幼儿 MP 感染的检测方面有很大的优势。

综上所述,荧光 PCR 检测 MP-DNA 不受病程及患儿本身的影响,可以在起病初期采取样本进行检测。有助于早期及未生成抗体者尤其婴幼儿的感染检测,亦有助于抗体已消失的支原体感染患者的检测,被动凝集法与 CRP 对荧光 PCR 的检测结果,尤其带菌人群的临床假阳性结果可提供辅助诊断,合理的指导临床用药。

续表 1 患者的一般情况比较

指标	非肥胖组	肥胖组	P
	(BMI<25, n=63)	(BMI≥25, n=72)	
三酰甘油(mmol/L)	1.53±0.12	2.69±0.24	<0.01
血红蛋白(g/L)	126.20±2.30	128.00±2.10	>0.05
肌酐(μmol/L)	78.20±3.40	74.30±2.50	>0.05
MWS(dynes×10 ³ /cm ²)	425.27±74.36	447.19±92.72	>0.05
BNP(ng/L)	498.57±107.82	384.27±94.74	<0.01

2.2 肥胖组 BNP 水平与其左心室壁应力不存在相关性($r=0.05, P>0.05$),而非肥胖组存在相关性($r=0.59, P<0.01$)。见表 1。

3 讨论

肥胖和左心室壁应力参与慢性心力衰竭的发病机制^[2]。本文得出肥胖患者 BNP 水平较体质量正常患者低,这与 Lavie 等^[3]报道的一致。尽管肥胖患者 BNP 水平较低,但大部分医院及生产厂家仍推荐 BNP ≥100 ng/L 作为心衰诊断的临界值,并认为 BNP 水平与心力衰竭的严重程度存在相关性^[4]。而本研究得出当 BMI≥25 ng/L, BNP 与 MWS 并不存在相关性。但肥胖患者 BNP 水平较低的机制目前仍不是很清楚,并存在不少争议。有研究表明, BNP 水平降低可引起盐敏感性高血压和左心室肥大。肥胖会伴随着水钠潴留,从而增加心排出量,这样便可增加 BNP 水平的升高,而实际上肥胖患者 BNP 水平比非肥胖患者低不合逻辑,说明 BNP 水平下降不应归结于非血液动力学原因,而归结于脂肪组织中存在大量 BNP 受体,当脂肪组织含量越高,其 BNP 受体就多,所以在血液循环中清除得快,其血浆中的 BNP 水平就低,而这些受体受人体基因控制^[5]。另外,肌饿或热量丢失可以抑制 BNP 受体基因的表达,因此在非肥胖患者中,其受体含量可能相对少些^[6]。而冯莉等^[7]研究却表明,氨基末端脑钠肽前体(NT-proBNP)水平在肥胖患者中同样也低,而 BNP 受体并不会清除 NT-proBNP,因此后一种研究有力的反驳了前一种假设。其次,也有研究认为,脂肪化抑制心肌细胞释放 BNP,并影响 BNP 的合成。因此, BNP 水平降低是肥胖产生的后果。但最近研究表明,这

两种关系是相互作用的, BNP 与 BNP 受体相互结合后,可以减少脂肪的脂解,加速脂肪的堆积,这就形成了一种恶性循环^[7-8]。

参考文献

- [1] 彭赛平. 脑钠肽在心力衰竭中的应用进展[J]. 临床医学工程, 2010, 17(10): 157-159.
- [2] Maisel AS, Krishnaswamy P, Nowak RM, et al. Rapid measurement of B-type natriuretic peptide in the emergency diagnosis of heart failure[J]. N Engl J Med, 2002, 347(3): 161-167.
- [3] Lavie CJ, Milani RV. Obesity and cardiovascular disease: the hippocrates paradox [J]. Am Coll Cardiol, 2003, 42(4): 668-676.
- [4] 田玉龙, 邢玉良. 脑钠肽及高敏 C 反应蛋白与慢性心力衰竭严重程度的关系[J]. 河北医药, 2010, 32(22): 3146-3147.
- [5] Sarzani R, Dessi-Fulgheri P, Salvi F. A novel promoter variant of the natriuretic peptide clearance receptor gene is associated with lower atrial natriuretic peptide and higher blood pressure in obese hypertensives [J]. Hypertens 1999, 17(9): 1301-1305.
- [6] Sengenès C, Berlan M, De Gliszinski I, et al. Natriuretic peptides: a new lipolytic pathway in human adipocytes [J]. FASEB, 2000, 14(10): 1345-1351.
- [7] 冯莉, 浦介麟, 倪新海, 等. 冠心病患者血浆 N-末端脑钠肽浓度与体重指数关系研究[J]. 中国分子心脏病学杂志, 2009, 9(6): 353-356.
- [8] Morabito D, Vallotton MB, Lang U. Obesity is associated with impaired ventricular protein kinase C-MAP kinase signaling and altered ANP mRNA expression in the heart of adult Zucker rats[J]. J Investig Med, 2008, 49(4): 310-318.

(收稿日期: 2011-04-03)

(上接第 1949 页)

参考文献

- [1] 李金明. 实时荧光 PCR 技术[M]. 北京: 人民军医出版社, 2007: 66-67.
- [2] 胡元生, 温和, 周银娣, 等. 三种肺炎支原体检测方法的比较[J]. 临床输血与检验, 2008, 10(1): 9-11.
- [3] 庞保军, 朱桂峰, 刘桂莲, 等. 小儿肺炎支原体感染不同血清学方法检测及临床应用[J]. 现代检验医学杂志, 2004; 19(5): 30-31.
- [4] 余明杰, 王萍, 王坤, 等. 45 例小儿支原体肺炎高敏 C-反应蛋白检测分析[J]. 检验医学与临床, 2009, 6(24): 2108-2110.
- [5] 袁壮, 董宗祈, 鲁继荣, 等. 肺炎支原体肺炎诊断治疗中的

- 几个问题[J]. 中国实用儿科杂志, 2002, 8(17): 449-457.
- [6] 罗勤, 程均, 刘明. C 反应蛋白检测在小儿呼吸道感染中的临床研究[J]. 实用心脑血管病杂志, 2010, 18(6): 773-774.
- [7] 王胜江, 黄伟, 高立娜, 等. 儿童肺炎支原体感染血清学检测结果临床分析[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(7): 691-693.
- [8] 吕振华, 张建设. 肺炎支原体肺炎 92 例临床分析[J]. 现代中西医结合杂志, 2010, 19(23): 2931-2932.
- [9] 马琼麟, 曾维, 牛承荣, 等. 肺炎支原体感染患儿检测血清 MPAb-IgM 与 IL-6、TNF-α 的关系[J]. 中国医药导报, 2010, 7(6): 48-49.

(收稿日期: 2011-02-25)