

3 种不同方法在小儿肺炎支原体检测中的价值比较^{*}

蔡叶琴, 黄黎, 宋俊, 孙彦 (广东省深圳市南山区西丽人民医院检验科 518055)

【摘要】 目的 探讨 3 种不同方法在小儿肺炎支原体检测中的应用效果。**方法** 选择深圳市南山区西丽人民医院收治的 1 800 例呼吸道感染患儿为研究对象, 分别用间接免疫荧光法、被动颗粒凝集法、培养法检测支原体感染, 并比较 3 种检测方法的阳性率、灵敏度、特异性。**结果** 培养法阳性率与间接免疫荧光法及被动颗粒凝集法相比, 差异无统计学意义 ($P>0.05$); 间接免疫荧光法与被动颗粒凝集法阳性率差异也无统计学意义 ($P>0.05$); 间接免疫荧光法与被动颗粒凝集法、培养法灵敏度、特异性经统计学分析, 差异无统计学意义 ($P>0.05$)。**结论** 临床医师需根据病原体检测的优缺点, 选择合适的方法, 综合各种检测结果分析诊断肺炎支原体感染。

【关键词】 肺炎支原体; 间接免疫荧光法; 被动颗粒凝集试验

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2014.12.007 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2014)12-1608-02

Comparison in detection value of three different methods in pediatric pneumonia mycoplasma^{*} CAI Ye-qin, HUANG Li, SONG Jun, SUN Yan (Department of Clinical Laboratory, Shenzhen Nanshan District Xili Hospital, Shenzhen, Guangdong, 518055, China)

【Abstract】 Objective To study the clinical effect of the three different methods in the infantile pneumonia mycoplasma detection. **Methods** 1 800 cases of children with respiratory tract infection were choosed as the research object. indirect immunofluorescence method, passive particle agglutination and culture method were used to detect mycoplasma pneumonia. Positive rate, sensitivity and specificity of three methods were observed. **Results** PCR positive rate was significantly higher than the indirect immunofluorescence method and passive particle agglutination method, the difference was statistically significant ($P<0.05$). Indirect immunofluorescence method with the method of passive particle agglutination positive rate difference has no statistical significance ($P>0.05$). Indirect immunofluorescence and passive particle agglutination method, PCR method, the sensitivity, specificity, after statistics analysis, there was no significant difference ($P>0.05$). **Conclusion** Clinicians should be based on the advantages and disadvantages of pathogen detection, choosing the appropriate method, based on the analysis of all kinds of test results in the diagnosis of mycoplasma pneumoniae infection.

【Key words】 pneumonia mycoplasma; indirect immunofluorescence method; passive particle agglutination test

肺炎支原体(MP)为小儿呼吸道感染的主要病原体之一, 可经口、鼻腔分泌物或病原体直接与机体接触而传播, 免疫力低下的儿童更易受 MP 感染^[1-3]。由于 MP 感染临床表现特异性不高, 很难根据临床症状与其他病原微生物感染鉴别, 致使实验室诊断显得尤为重要。目前常用的检测 MP 的方法有聚合酶链反应(PCR)、免疫斑点试验、间接荧光试验等^[4]。本研究对该院 2011 年 6 月至 2012 年 6 月收治的呼吸道感染患儿 1 800 例, 分别采用不同方法检测, 为诊断支原体感染提供实验室依据, 现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本组 1 800 例呼吸道感染患儿, 以培养法为金标准, MP 感染 560 例。男性 1 026 例, 女性 774 例; 年龄 1~14 岁, 平均年龄 (7.5±2.3) 岁; 上呼吸道感染 546 例, 支气管炎 320 例, 肺炎 300 例, 支气管炎 250 例, 毛细支气管炎 200 例, 胸膜炎 184 例。

1.2 仪器与试剂 自动振荡混合器、移液管、MP 抗体检测试

剂盒购自日本富士瑞必欧株式会社。PCR 试剂盒购自中山大学达安基因有限公司。

1.3 检测方法

1.3.1 间接免疫荧光法 滴加磷酸盐缓冲液(PBS)于已知抗原标本片, 10 min 后弃去, 使标本片保持一定湿度。然后再滴加 PBS 适当稀释待检测抗体标本, 覆盖已知抗原标本片, 并将玻片置于搪瓷盒内, 37℃保温 30 min。取出玻片后, 用 PBS 冲洗 1~2 次, 然后按顺序过 PBS 三缸浸泡, 每缸 5 min, 浸泡过程中注意振荡。再取出玻片, 滤纸吸去多余的水分, 但标本仍不干燥, 滴加 1 滴一定稀释度的荧光标记抗人球蛋白抗体。然后将玻片平放在搪瓷盒内, 37℃温育 30 min。温育完毕后按上述方法冲洗 3 次, 滤纸吸去多余水分后, 滴加 1 滴缓冲甘油, 轻轻覆上盖玻片。最后于荧光显微镜高倍视野下观察, 判定结果。

1.3.2 被动颗粒凝集法 先将血清稀释复溶致敏粒子及未致敏粒子。然后用经校准的滴管于第 1 孔中滴加 100 μL 的血清

^{*} 基金项目: 广东省深圳市科技计划项目医疗卫生类(201003297)。

作者简介: 蔡叶琴, 女, 本科, 副主任检验师, 主要从事临床分子生物学研究。

稀释液,第 2~8 孔滴加 25 μ L 血清稀释液,然后用微量移液管于第 1 孔中滴加 25 μ L 样品,用微量加样器从第 1~8 孔行倍比稀释。第 2 孔中滴入 25 μ L 未致敏粒子,第 3~8 孔各滴入 25 μ L 致敏粒子。然后用平板混合器混匀各孔内容物 30 s,盖上反应板于室温下静置 2 h,最后在平板观测器上读取凝集图像。

1.3.3 培养法 采用 PPLO 基础培养液,按 1:10 接种待检标本于培养基,孵育 24~48 h 后观察有无酸性颜色改变。再接种至平皿上,37 $^{\circ}$ C 孵育 5~14 d 观察菌落生长情况。

1.4 判定标准

1.4.1 间接免疫荧光结果判定 根据标本的特异性荧光强度判定结果,(-)为无荧光,($\pm$)为有极弱的可疑荧光,(+)荧光较弱,但清晰可见,(++)荧光明亮,(+++~+++++)荧光闪亮。待检标本特异性荧光染色强度达(++)以上,对照显示为($\pm$)或(-)即可判定为阳性^[5]。

1.4.2 被动颗粒凝集结果判定 (1)阳性结果判定:样品与未致敏粒子稀释倍数 1:20 的反应图像判定为(-),与致敏粒子稀释倍数为 1:40 的反应图像判定为(+)或(++)即判定为阳性。显示出反应图像为(+)时的最终稀释倍数为抗体滴度。(2)阴性结果判定:不论样品与致敏粒子呈何种反应图像,只要与致敏粒子(稀释倍数 1:40)的反应图像显示为(-)即判定为阴性^[6]。

1.4.3 培养法结果判定 对生长的菌落行血细胞吸附试验,用 MP 免疫血清行生长抑制试验。能使绵羊或豚鼠红细胞产生 β 型完全溶血即判定为 MP 阳性。

1.5 灵敏度及特异度的计算 灵敏度=真阳性例数/(真阳性例数+假阴性例数) $\times$ 100%。特异度=真阴性例数/(真阴性例数+假阳性例数) $\times$ 100%。

1.6 统计学处理 采用 SPSS 18.0 统计软件进行数据分析,计数资料以百分数表示,采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 3 种方法检出率、灵敏度及特异性比较 培养法阳性率与间接免疫荧光法及被动颗粒凝集法相比,差异无统计学意义($P>0.05$);间接免疫荧光法与被动颗粒凝集法阳性率差异无统计学意义($P>0.05$);间接免疫荧光法与被动颗粒凝集法、培养法的灵敏度和特异性,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 1。

表 1 3 种方法检出率、灵敏度及特异性比较				
检测方法	<i>n</i>	检出率[<i>n</i> (%)]	灵敏度(%)	特异性(%)
间接免疫荧光法	1 800	526(29.2)	94.2	93.8
被动颗粒凝集法	1 800	540(30.0)	94.5	94.1
培养法	1 800	560(31.1)	94.8	94.2
<i>P</i> 值		>0.05	>0.05	>0.05

2.2 不同年龄 MP 患者抗体阳性率 1 岁以下患儿 MP 抗体阳性率显著低于其他年龄组,差异有统计学意义($P<0.05$)。MP 抗体阳性率随年龄增长而逐渐升高,7~14 岁儿童组 MP 抗体阳性率最高,为 MP 感染的高发人群,3 种检测方法结论

一致。见表 2。
2.3 不同季节 MP 患者抗体阳性率 一年四季均可见 MP 感染病例发生,冬春季 MP 抗体阳性率显著高于夏秋季,差异有统计学意义($P<0.05$)。冬季 MP 抗体阳性率显著高于其他季节,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 3。

表 2 不同年龄 MP 患者抗体阳性率比较[<i>n</i> (%)]				
年龄	<i>n</i>	间接免疫荧光法	被动颗粒凝集法	培养法
<1 岁	189	12(6.3)	15(7.9)	18(9.5)
~3 岁	557	99(17.8)	102(18.3)	108(19.4)
~6 岁	586	189(32.3)	188(32.1)	196(33.4)
~14 岁	468	226(48.3)	235(50.2)	238(50.9)
合计	1 800	526(29.2)	540(30.0)	560(31.1)

表 3 不同季节 MP 患者抗体阳性率比较[<i>n</i> (%)]				
季节	<i>n</i>	间接免疫荧光法	被动颗粒凝集法	培养法
春季	532	180(33.8)	189(35.5)	188(35.3)
夏季	380	88(23.2)	86(22.6)	92(24.2)
秋季	350	80(22.9)	89(25.4)	90(25.7)
冬季	538	178(33.1)	176(32.7)	190(35.3)
合计	1 800	526(29.2)	540(30.0)	560(31.1)

3 讨 论

冷凝集试验诊断 MP 感染特异性不高,敏感性较差,易受患者病程影响。寻找可在临床实验室通过简便方法即可检测 MP 感染的方法成为研究的关注点^[7-8]。

病原体培养为 MP 诊断的金标准,需在特殊实验室开展,培养过程耗时、复杂,不利于临床早期诊断,但诊断灵敏性高,特异性好。间接免疫荧光法为 IFA 技术的血清学方法,可同时检测 9 种呼吸道非典型病原体。有研究显示,该方法为可靠的检测多种呼吸道病毒及非典型病原体的方法,敏感性高,特异性好,高效简便,成本低廉,适于临床筛查^[9-10]。被动颗粒凝集试验也是基于 MP-IgM 的免疫学检测方法,陈芝芳等采用被动颗粒凝集试验检测肺炎支原体 IgM 抗体,结果显示阳性率达 29.8%,不同年龄组患者的 MP-IgM 抗体检出率稍有差异,第 1、4 季度 MP-IgM 感染检出率更高。提示被动凝集试验检测 MP-IgM 方便可靠,阳性率与年龄、季节有关。

本组研究结果显示,分别采用间接免疫荧光法及被动颗粒凝集试验检测 MP-IgM 抗体,并与 MP 诊断金标准培养法检测阳性率、灵敏度、特异度比较,提示 3 种检测方法的阳性率、灵敏度、特异性差异无统计学意义($P>0.05$)。提示 2 种检测均有较高的阳性检出率、灵敏度、特异性,具体选择何种诊断方法需综合临床情况及患者病情特点具体分析。

综上所述,对于支原体感染采用被动颗粒凝集试验与间接免疫荧光试验均可作为早期诊断支原体感染提供依据。临床医师需根据病原体检测的优缺点选择合适的方法,综合各种检测结果分析诊断 MP 感染。

参考文献

[1] 郑伟明,张进萍. 86 例呼吸道感染患儿(下转第 1612 页)

骨骼。因此加强对骨质疏松患者的护理能够有效的改善患者的疾病情况,改善患者的生活质量以及活动能力,减少并发症的发生^[6]。本组探讨从临床护理方面改善骨质疏松患者身体及心理情况,表明采取 CP 骨质疏松症患者能够有效的改善患者的骨密度和其他指标。

CP 是一种为患者提供高品质、高效率、低成本的医疗服务模式,其由临床路径小组根据某一诊断、疾病或手术指征,使患者在住院期间按照临床路径的标准化流程来接受治疗与护理^[7]。CP 的最大特点,是以患者为中心,由不同的医师和其他相关医务人员如护士、营养师、心理咨询师、理疗师等整合成一个医疗团队,经由充分沟通协调后,依据相同的路径去实施医疗照顾行为与计划,并随着医学的进步与发展,持续不断地评估及修正路径。其重要意义在于:加强学科之间、医护之间、部门之间的交流;保证治疗项目精细化、标准化、程序化;减少治疗过程的随意化;提高医院资源的管理和利用;加强临床治疗的风险控制;缩短住院周期,减低费用;为无相关经验人员提供教育机会;改善患者教育,提高患者及家属参与治疗过程的主动性^[8-9]。

目前在 OP 患者的常规住院治疗中缺乏共同认可的标准化流程及可依据的准则,临床路径的执行、菜单式医嘱的运用避免了不同医师的差异化治疗模式。本研究表明,对 OP 患者实施 CP 干预,体现了多专业协作的工作方式,保证了医疗护理等措施在既定时间内实现,同时达到预期结果。在效率方面,实施临床路径利于健康服务机构面对竞争的策略;能够有效降低成本和有效运用资源。在质量方面,临床路径能维持和提高质量,其提供了标准化的流程管理,有利于服务质量的控制与改进。在护理方面,有助于年轻护士的培养,能够依据路径内容提高其工作的主动性及宣教能力,知道每天该为患者做什么、怎样做,使工作有计划、有预见性的执行,不再盲目、机械,保证了健康教育的全面性、有效性。在成本效益方面,有助于降低住院费用、缩短住院时间。这种以患者为中心、多部门

共同面向患者的整体医疗服务模式,改变了既往团队医疗概念,使骨质疏松患者的整个住院过程成为一个衔接严密的无缝隙过程,缩短了住院日、降低了住院费用,干预不仅改善了患者的体质,对患者的疾病治疗与恢复情况有一定的积极意义,同时对患者的生活质量以及心理状态等方面均有一定的改善,极大的提高患者的满意度,体现了医院“以人为本”、人性化、个体化的现代医疗护理服务理念。

参考文献

[1] 唐焦灿. 护理干预对骨质疏松症并椎体压缩性骨折患者生活质量的影响[J]. 中医药导报, 2011, 18(2): 84-86.

[2] 李敏文. 中医护理干预对骨质疏松症患者的作用[J]. 临床医药实践, 2010, 19(7): 959-960.

[3] 夏凌霞, 范井月. 临床护理路径在骨质疏松患者健康教育中的应用[J]. 齐鲁护理杂志, 2011, 5(17): 19-22.

[4] 张泽鸿, 孙平, 洪曼杰, 等. 老年骨质疏松的健康教育[J]. 中国骨质疏松杂志, 2011, 17(8): 753-755.

[5] 李明子. 临床路径的基本概念及其应用[J]. 中华护理杂志, 2010, 45(1): 59-61.

[6] 中华医学会骨科学分会. 骨质疏松骨折诊疗指南[J]. 中华骨科杂志, 2008, 18(10): 875-878.

[7] 张正华, 高居中. 实施临床路径的意义和方法[J]. 中华医院管理杂志, 2002, 13(9): 61-62.

[8] 李筱芹, 肖新华, 廖瑛, 等. 社区健康教育和临床路径护理干预对社区骨质疏松患者康复的影响[J]. 山东医药, 2011, 51(52): 60-61.

[9] 李建军, 杨明亮, 黄永青, 等. 康复临床路径制订实施指导原则[J]. 中国康复理论与实践, 2012, 18(1): 90-91.

(收稿日期: 2013-10-21 修回日期: 2014-04-12)

(上接第 1609 页)

肺炎支原体抗体检测结果分析[J]. 中国医药科学, 2011, 24(1): 111-112.

[2] Dabrazhynetskaya A, Volokhov DV, Lin TL, et al. Collaborative study report; Evaluation of the ATCC experimental mycoplasma reference strains panel prepared for comparison of NAT-based and conventional mycoplasma detection methods[J]. Biologicals, 2013, 56(13): 84-89.

[3] 江小红. 呼吸道感染患儿检测肺炎支原体抗体的应用分析[J]. 检验医学与临床, 2013, 10(9): 1152-1153.

[4] 蒙桂文. 肺炎支原体抗体检测对婴幼儿呼吸道感染的临床应用[J]. 检验医学与临床, 2013, 10(8): 955-956.

[5] Register KB, Sacco RE, Olsen SC. Evaluation of ELISAs for detection of mycoplasma bovis-specific antibody in bison sera[J]. Clin Vaccine Immunol, 2013, 8(10): 154-156.

[6] 欧静德, 邓国生, 何江. 被动颗粒凝集法检测 1890 例儿童

肺炎支原体抗体分析[J]. 中国社区医师, 2013, 15(7): 226.

[7] Climent E, Mondragón L, Martínez-Máez R, et al. Selective, highly sensitive, and rapid detection of genomic DNA by using gated materials: Mycoplasma detection[J]. Angew Chem Int Ed Engl, 2013, 52(34): 8938-8942.

[8] 尤兰华, 郭沛艳, 李雪辉, 等. 儿童呼吸道非典型病原体的检测及方法评价[J]. 西部医学, 2013, 25(1): 46-48.

[9] Guthrie AL, White CL, Brown MB, et al. Detection of Mycoplasma agassizii in the Texas tortoise (Gopherus berlandieri)[J]. J Wildl Dis, 2013, 49(3): 704-708.

[10] 王利健, 陈俊, 吴荣辉, 等. 肺炎支原体抗体检测在呼吸道感染患儿诊疗中的意义[J]. 放射免疫学杂志, 2013, 26(1): 85-87.

(收稿日期: 2013-11-10 修回日期: 2014-04-29)