

儿童呼吸道非典型病原体的检测及方法评价

尤兰华, 郭沛艳, 李雪辉, 陈杭薇

(北京军区总医院呼吸内科, 北京 100700)

【摘要】 目的 应用多种检测方法对临床儿童患者非典型呼吸道病原体进行检测, 并对检测结果进行分析和方法评价, 为临床提供呼吸道感染性疾病病因诊断依据。方法 应用 IFA 法检测儿童常见 9 种呼吸道病原体的 IgM 抗体, 同时应用 GICA 法对流感病毒抗原、快速培养法对 MP 进行检测, 并分析比较检测结果。结果 453 例样本中, 9 种 IgM 抗体总共检出 94 例, 阳性率 20.8%。其中应用 GICA 法检测 Flu A 和 Flu B 抗原与 IFA 法检测抗体总体一致率分别达 98.9% 和 99.6% (Kappa 值 > 0.75, 一致性满意), 培养法检测 MP 与 PCR 法总体一致率达 97.6% (Kappa 值 > 0.75, 一致性满意)。结论 非典型病原体是儿童呼吸道感染的重要病原体, 应用 IFA 抗体检测、流感病毒 GICA 抗原检测、MP 快速培养法能够为临床提供早期诊断和正确治疗的依据。

【关键词】 检测; 呼吸道; 流感病毒; 肺炎支原体

【中图分类号】 R 562 **【文献标识码】** A **doi:** 10.3969/j.issn.1672-3511.2013.01.015

Application and Evaluation for the Detecting Techniques of Children Respiratory Atypical Pathogens

YOU Lan-hua, GUO Pei-yan, LI Xue-hui, et al

(Department of rediration, General hospital of Beijing Military, Beijng 100700, China)

【Abstract】 Objective Use a variety of measurements to detect common respiratory atypical pathogens in clinical children specimens. Evaluate these measurements by analysing the test results, in order to provide diagnosis basis for Respiratory tract infection. **Methods** 9 types of respiratory atypical pathogens IgM were detected by IFA. Flu was detected by GICA. MP was detected by rapid culture. **Results** Detection rate of respiratory atypical pathogens was 20.8% (94) in the 453 samples, via detecting 9 types of respiratory atypical pathogens IgM. The results of GICA detection of Flu have a high consistency of 98.9% (Flu A) and 99.6% (Flu B) with that of IFA detection (Kappa > 0.75). Rapid culture of MP has a high consistency of 97.6% with that of IFA detection (Kappa > 0.75) in those samples. **Conclusion** Respiratory atypical pathogens are important pathogens in respiratory tract infection. Using IFA, GICA and MP rapid culture are able to provide evidence for early diagnosis and proper therapy.

【Key words】 detection; Respiratory tract; Flu virus; MP

儿童呼吸道非典型病原体指肺炎双球菌以外的病原体, 主要包括肺炎支原体 (MP)、肺炎衣原体 (CP)、嗜肺军团菌 (LP) 和 Q 热立克次体 (QP) 及一些常见的呼吸道病毒^[1,2]。由于这些病原体感染力强、变异快、流行广、不容易形成长久免疫力, 给临床诊断和治疗以及疾病防控带来一定的困难^[2]。目前实验室检测呼吸道病原体的方法有很多, 但不同的方法都有其各自的优越性和局限性^[3]。我们应用间接免疫荧光法 (IFA) 检测儿童血清中呼吸道感染 9 种病原体的 IgM 抗体, 探讨儿童呼吸道主要病原体的分布, 同时使用胶体金免疫层析法 (GICA) 对甲型流感病毒 (Flu A)、乙型流感病毒 (Flu B), 快速培养法对 MP 进行抗原检测, 分析结果并对不同检测方法进行评价。

1 对象与方法

1.1 对象 为我院 2011 年 9 月~2012 年 2 月收治的呼吸道疾病儿童患者 453 例, 其中男性 273 例, 女性 180 例, 年龄 5 天~15 岁。病种包括: 上呼吸道感染、肺炎、支气管肺炎、支气管炎、毛细支气管炎、胸膜炎、发热待查等。

1.2 方法 由专业人员无菌静脉穿刺采集血液。血清样本采集后 2~8℃ 冷藏, 8 小时内用于嗜肺军团菌血清 1 型 (LP1)、MP、QP、CP、腺病毒 (ADV)、呼吸道合胞病毒 (RSV)、Flu A、Flu B 和副流感病毒 1、2、3 型 (PIVs) 9 种病原体的 IgM 检测。同时用无菌棉签采集患者鼻咽部分泌物, 采集后样本立即用于 Flu A、Flu B、MP 的检测。

1.2.1 间接免疫荧光法(IFA 法) 所用产品九项呼吸道感病原体 IgM 抗体检测试剂盒[间接免疫荧光法,国食药监械(进)字 2010 第 3400365 号]购自西班牙 VIRCELL, S. L. 公司,有效期内依据说明书使用。

1.2.2 胶体金免疫层析法(GICA 法) 甲型流感病毒快速检测试剂盒[胶体金法,国食药监械(准)字 2011 第 3401280 号]和乙型流感病毒快速检测试剂盒[胶体金法,国食药监械(准)字 2011 第 3401281 号]均购自北京阿司可来生物工程有限公司,有效期内依据说明书使用。

1.2.3 肺炎支原体快速培养法 支原体营养和增菌组合培养基[冀邢食药监械(准)字 2009 第 1400002 号],购自于河北微拉生物科技有限公司,有效期内依据说明书使用。

1.3 统计学分析 应用 SPSS 18.0 软件建立数据库,并进行 χ^2 检验,检验水准: $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 9 项呼吸道病原体 IgM 抗体检出情况 453 例呼吸道疾病患者中九种 IgM 抗体总共检出 94 例,阳性率 20.8%。单一 IgM 抗体阳性 72 例,两种 IgM 抗体混合的阳性 21 例,三种混合的 1 例,分别占总阳性例数的 76.6%、22.3%和 1.1%。各种 IgM 抗体阳性率见表 1。

表 1 9 种 IgM 抗体阳性率

Table 1 Positive rate of 9 IgM

检测项目	LP ₁	MP	QP	CP	ADV	RSV	Flu A	Flu B	PIVs
阳性例数(n)	12	36	0	0	4	16	22	10	17
阳性率($\times 10^{-2}$)	2.6	7.9	0.0	0.0	0.9	3.5	3.6	2.4	4.1

2.2 GICA 法检测 Flu 和 IFA 法检测结果比较 分析两种方法检测 Flu A 的结果见表 2。表 2 显示,两种方法的阳性一致率为 90.9%,阴性一致率为 99.3%,总体一致率为 98.9%,经计算 Kappa=0.88 > 0.75,两种方法检测所得结果一致性满意。对检测结果不同部分进行 McNemar χ^2 检验得出,在 $\alpha=0.05$ 的水准上, $\chi^2=0, P>0.05$,因此认为两种检测结果之间差异无统计学意义。同理分析两种方法检测 Flu B 见表 3。表 3 显示,阳性一致率为 100.0%,阴性一致率为 99.5%,总体一致率为 99.6%,经计算 Kappa=0.91 > 0.75,两种方法检测所得结果一致性满意。对检测结果不同部分进行 McNemar χ^2 检验得出,在 $\alpha=0.05$ 的水准上, $\chi^2=0.5, P>0.05$,因此认为两种检测结果之间差异无统计学意义。

2.3 快速培养法检测 MP 与 IFA 法检测结果比较 通过分析两种方法检测 MP 结果见表 4。表 4 显示,

两种方法的阳性一致率为 88.9%,阴性一致率为 98.3%,总体一致率为 97.6%,经计算 Kappa=0.84 > 0.75,两种检测结果之间差异无统计学意义($\chi^2=0.3636, P>0.05$),提示两种方法检测所得结果一致性满意。

表 2 GICA 法与 IFA 法检测 Flu A 结果比较

Table 2 Results comparison of detection of Flu A with GICA and IFA

GICA 法	IFA 法		合计
	阳性	阴性	
阳性	20	3	23
阴性	2	428	430
合计	22	431	453

表 3 GICA 法与 IFA 法检测 Flu B 结果比较

Table 3 Results comparison of detection of Flu B with GICA and IFA

GICA 法	IFA 法		合计
	阳性	阴性	
阳性	10	2	12
阴性	0	441	441
合计	10	443	453

表 4 快速培养法与 IFA 法检测 MP 结果比较

Table 4 Results comparison of detection of MP with rapid culture and IFA

快速培养法	IFA 法		合计
	阳性	阴性	
阳性	32	7	39
阴性	4	410	414
合计	36	417	453

3 讨论

在呼吸道感染中,90%~95%是由非典型病原体所致,这些病原体具有变异性强、潜伏期短、传播快、发病急、病后免疫力不能持久、临床症状相似等特点,给临床的诊断和治疗造成了极大的困难^[4,5]。

本文对 9 种呼吸道病原体 IgM 抗体检测试剂盒采用的是基于 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。文献表明^[6,7],此种检测试剂是一种可靠的检测多种呼吸道病毒和非典型病原体的方法,具有敏感性高、高效简便、成本低廉和适合临床筛查的优点。我们应用此种检测试剂对 453 例儿童患者血清样本进行检测,总阳性率达 20.8%,其中 MP(7.9%) RSV(3.5%), Flu A(3.6%), PIVs(4.1%)的阳性率较高,结果再度证明了 MP、RSV、Flu A 和 PIV 是呼吸道感染的主要病原^[8]。

GICA 法是基于胶体金免疫层析原理的一种快速病原体检测方法,其用来检测流感病毒简便快速,无

(下转第 50 页)

星口服每 2 月一次给药,经对比观察可明显降低 COPD 患者急性发作次数,阻止肺功能进一步下降,炎症标志物水平变化及患者临床疗效变化与对照组相比有显著性差异($P < 0.005$)。即观察组炎症标志物水平明显低于对照组,临床疗效方面也优异对照组。对改善 COPD 患者的生存质量具有重要意义。其机制不明,推测可能与脉冲式治疗可能降低 COPD 患者气道内细菌的负荷,从而减少了急性发作的次数,防止肺功能进一步下降。

4 结论

司帕沙星脉冲式治疗可明显改善 COPD 患者症状,具有肯定的抗炎作用,对改善 COPD 患者的生存质量具有重要意义,其机制不明,推测可能与脉冲式治疗可能降低 COPD 患者气道内细菌的负荷,从而减少了急性发作的次数,防止肺功能进一步下降。

【参考文献】

[1] 杨晓巍. 慢性阻塞性肺疾病急性加重期抗菌治疗的新思维[J]. 医学综述, 2006, 12(4): 237-238.
 [2] 陆玲. 慢性阻塞性肺疾病急性加重期 122 例临床分析[J]. 中

同基层医药, 2009, 16(2): 299.
 [3] Barnes PJ, Stockley RA. COPD: Current therapeutic interventions and future approaches[J]. Eur Respir J, 2005, 25: 1084-1106.
 [4] 中华医学会呼吸病学会, 慢性阻塞性肺疾病学组. 慢性阻塞性肺疾病诊治指南[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2007, 30(1): 8-14.
 [5] 熊曙光, 陈余思. CRP 在慢性阻塞性肺疾病急性加重期的应用评价[J]. 临床肺科杂志, 2007, 12(6): 608-610.
 [6] Chen ZH, Kim HP, Ryter SW, et al. Identifying targets for COPD treatment through gene expression analyses [J]. Int J Chron Obstruct Pulmonary Disease, 2008, 3(3): 359-370.
 [7] Barnes PJ, Hansel Tr. Prospects for new drugs for chronic obstructive disease[J]. Lancet, 2004, 364: 985-996.
 [8] 李青云. 黄芪颗粒治疗小儿多汗症的疗效观察[J]. 现代中西医结合杂志, 2010, 19(20): 2499-2500.
 [9] 穆林, 向旭东. 细菌感染在慢性阻塞性肺病急性加重中的研究[J]. 中华新医学, 2010, 9: 59.
 [10] 张涛, 赖成民, 李茂全. 黄芪注射剂在慢性阻塞性肺疾病患者急性加重期的疗效观察[J]. 西部医学, 2012, 24(1): 33-35.
 [11] 李源, 丁国萍. 1222 例医院感染调查分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2011, 21(3): 438-440.

(收稿日期: 2012-05-07; 编辑: 陈舟贵)

(上接第 47 页)

需特殊仪器和专业人员,特异性高,但敏感性一般^[9]。本实验通过对 GICA 法与 IFA 法检测 Flu 进行比较发现其检测一致性程度满意(Flu A Kappa=0.88 > 0.75, Flu B Kappa=0.91 > 0.75)。快速培养法原理是 MP 利用培养基中营养成分和快速生长因子进行快速增殖,产酸使培养基 pH 值降低,从而使培养基中的酸碱指示剂变色。该方法实验简便快速,容易操作,阳性标本 24 小时即可报告^[10]。而本实验通过快速培养法和 IFA 法的比较,发现两种方法一致性程度满意(Kappa=0.84 > 0.75),快速培养法有一定的假阳性率,推断可能与样本污染有关^[11],所以建议使用的时候注意操作方法。

4 结论

非典型病原体是儿童呼吸道感染常见的病原体,应用 IFA 抗体检测、流感病毒 GICA 抗原检测、MP 快速培养法能够为临床提供早期诊断和正确治疗的依据,可以根据不同的病原体检测方法的优缺点选择其适合的使用场所,而最终的确诊不能依靠单一方法的检测。

【参考文献】

[1] 刘国英,樊昌. 反转录多聚酶链反应联合间接免疫荧光法对

儿童下呼吸道非典型病原体感染早期诊断的意义[J]. 实用儿科临床杂志, 2010, 04(25): 269-270.
 [2] 吴泽刚,李艳,祝成亮,等. 湖北地区儿童急性呼吸道感染病原体研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2011, 10(21): 2129-2131.
 [3] 林峰,吴德芬. 非典型呼吸道病原体的实验室检测方法[J]. 医学信息, 2011, 06(24): 3887-3888.
 [4] 黄蓉,段荣. 呼吸道病毒检测方法进展与临床意义[J]. 实验与检验医学, 2009, 04(27): 393-396.
 [5] 甘志远,颜云盈,朱心智. 生物芯片在婴幼儿呼吸道感染诊断中的应用[J]. 内科, 2011, 03(06): 215-216.
 [6] Sally AF, Azza MO, Eman AE, et al. Pneumoslide-M technique for rapid detection of atypical pathogens in critically ill children with lower respiratory tract infections [J]. Journal of Medical Sciences, 2006, 6(5): 793-799.
 [7] 谢红梅,胡必杰,马艳,等. 1647 例呼吸道感染病原体的 IgM 抗体检测结果分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2012, 12(22): 2696-2698.
 [8] 陈杭薇,尤兰华. 成人呼吸道病毒、肺炎衣原体、支原体感染研究[J]. 中华医学感染学杂志, 2003, 04(13): 308-310.
 [9] 李晓光,胥婕,杨雪松,等. 应用流感病毒快速检测方法对流感样病例病原学诊断的研究[J]. 北京医学, 2009, 05(31): 280-283.
 [10] 肺炎支原体快速鉴定培养基在儿童支原体感染快速诊断中的应用[J]. 现代检验医学杂志, 2006, 05(21): 71-72.
 [11] 钱纪银. 肺炎支原体快速培养法在呼吸道疾病中的应用[J]. 现代检验医学杂志, 2006, 06(21): 28-30.

(收稿日期: 2012-07-31; 编辑: 母存培)